

(12)特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19)世界知的所有権機関  
国際事務局



(43)国際公開日  
2005年9月1日 (01.09.2005)

PCT

(10)国際公開番号  
WO 2005/080575 A1

(51)国際特許分類<sup>7</sup>: C12N 15/63, 1/15, 1/19, 1/21,  
5/00, 7/01, C12Q 1/02, 1/68, G01N 33/15, 33/50, 33/53,  
33/567, C07K 16/08, A61K 35/76, A61P 37/04

(21)国際出願番号: PCT/JP2005/003232

(22)国際出願日: 2005年2月21日 (21.02.2005)

(25)国際出願の言語: 日本語

(26)国際公開の言語: 日本語

(30)優先権データ:  
特願2004-045489 2004年2月20日 (20.02.2004) JP

(71)出願人(米国を除く全ての指定国について): 財団法人東京都医学研究機構 (TOKYO METROPOLITAN ORGANIZATION FOR MEDICAL RESEARCH) [JP/JP]; 〒1638001 東京都新宿区西新宿二丁目8番1号 Tokyo (JP). 東レ株式会社 (TORAY INDUSTRIES, INC.) [JP/JP]; 〒1038666 東京都中央区日本橋室町二丁目2番1号 Tokyo (JP).

(72)発明者; および

(75)発明者/出願人(米国についてのみ): 脇田 隆字 (WAKITA, Takaji) [JP/JP]; 〒1750094 東京都板橋区成増3丁目37番1号302号室 Tokyo (JP). 加藤 孝宣 (KATO, Takanobu) [JP/JP]; 〒4670004 愛知県名古屋市瑞穂区松月町1丁目41番地エミネンス石川橋206号 Aichi (JP). 伊達 朋子 (DATE, Tomoko) [JP/JP]; 〒2110044 神奈川県川崎市中原区新城3丁目13番5号テラス新城303号室 Kanagawa (JP). 宮本 道子 (MIYAMOTO, Michiko) [JP/JP]; 〒1830032 東京都府中市本宿町1丁目32番1号サンライズ

ビル7-202号室 Tokyo (JP). 田邊 純一 (TANABE, Jun-ichi) [JP/JP]; 〒2510874 神奈川県藤沢市花の木9番5号101号室 Kanagawa (JP). 曽根 三郎 (SONE, Saburo) [JP/JP]; 〒2440817 神奈川県横浜市戸塚区吉田町1120-3 Kanagawa (JP).

(74)代理人: 平木 祐輔, 外 (HIRAKI, Yusuke et al.); 〒1050001 東京都港区虎ノ門4丁目3番20号 神谷町MTビル19階 Tokyo (JP).

(81)指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.

(84)指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SL, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

— 国際調査報告書

2文字コード及び他の略語については、定期発行される各PCTガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイドスノート」を参照。

(54) Title: NUCLEIC ACID CONSTRUCT CONTAINING FULL-LENGTH GENOME OF HUMAN HEPATITIS C VIRUS, RECOMBINANT FULL-LENGTH VIRUS GENOME REPLICATIVE CELL HAVING THE NUCLEIC ACID CONSTRUCT TRANSFERRED THEREINTO AND METHOD OF CONSTRUCTING HEPATITIS C VIRAL PARTICLES

(54)発明の名称: ヒトC型肝炎ウイルスの全長ゲノムを含む核酸構築物及び該核酸構築物を導入した組換え全長ウイルスゲノム複製細胞、並びにC型肝炎ウイルス粒子の作製方法

(57) Abstract: It is intended to provide a method of efficiently replicating RNA containing the full-length genome sequence of HCV; a method of preparing viral particles of HCV containing full-length HCV replicon RNA or full-length HCV genome RNA by using a cell culture system; a method of producing hepatitis C viral particles which comprises culturing cells having replicon RNA comprising the full-length RNA sequence of hepatitis C virus of the genotype 2a and a base sequence containing at least one selection marker and/or at least one reporter gene and at least one IRES sequence or the full-length genome RNA of hepatitis C virus of the genotype 2a to thereby allowing the production of viral particles in the culture medium; a hepatitis C vaccine; and an antibody against hepatitis C viral particles.

(57)要約: 本発明は、HCV全長ゲノム配列を含むRNAを効率良く複製する方法、及び全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAを含有するHCVウイルス粒子を細胞培養系により製造する方法を提供する。また本発明は、遺伝子型2aのC型肝炎ウイルスの全長ゲノムRNA配列と、少なくとも1つの選択マーカー遺伝子及び/又は少なくとも1つのリポーター遺伝子と、少なくとも1つのIRES配列とを含む塩基配列からなるレプリコンRNA、あるいは遺伝子型2aのC型肝炎ウイルスの全長ゲノムRNAを導入した細胞を培養して、培養物中にウイルス粒子を産生させることを含む、C型肝炎ウイルス粒子の製造方法に関する。さらに本発明は、C型肝炎ワクチン及びC型肝炎ウイルス粒子に対する抗体にも関する。

WO 2005/080575 A1

## 明細書

ヒトC型肝炎ウイルスの全長ゲノムを含む核酸構築物及び該核酸構築物を導入した組換え全長ウイルスゲノム複製細胞、並びにC型肝炎ウイルス粒子の作製方法

5

## 技術分野

本発明は、C型肝炎ウイルスの全長ゲノムを含む核酸構築物、C型肝炎ウイルス粒子のin vitroでの作製方法、及び作製したC型肝炎ウイルス粒子の使用に関する。

10

## 背景技術

C型肝炎ウイルス (Hepatitis C virus、HCV) は、フラビウイルス科に属する、一本鎖の(+)鎖センスRNAをゲノムとするウイルスであり、C型肝炎の原因となることが知られている。

15 HCVは持続的に感染することにより慢性肝炎を引き起こす。現在、世界的規模で認められる慢性肝炎の主たる原因がHCV持続感染である。実際、持続感染者の50%程度が慢性肝炎を発症し、そのうち約20%の患者が10年～20年を経て肝硬変に移行し、さらにその一部は肝癌といった致死的な病態へと進展する。

20 C型肝炎に対する現在の主な治療は、インターフェロン- $\alpha$ 、インターフェロン- $\beta$ 、及びインターフェロン- $\alpha$ とプリンヌクレオシド誘導体であるリバビリンとの併用療法により行われている。しかしながら、これらの治療を行っても、全治療者の約60%に治療効果が認められるだけであり、効果が出た後に治療を中止すると半分以上の患者が再燃する。

25 工業国において罹患率が高く、最終的に深刻な結果を招き、かつ現在は原因治療法が存在しないC型肝炎に対する効果的な治療薬又は予防薬の開発は重要な目標である。そのため、HCV特異的な化学療法、ワクチン療法の発展が切望されている。抗HCV薬開発のターゲットとしては、HCVの複製抑制やHCVの細胞感染の抑制が考えられる。

最近になって、HCV由来の自律複製能を有するRNAとして、HCVサブゲノムRNAレ

プリコンシステムが作製された（特許文献1、2及び3、非特許文献1～4）。HCVサブゲノムRNAレプリコンシステムは、HCVゲノムの構造遺伝子を取り除いて代わりに選択薬剤マーカー遺伝子を挿入したHCVレプリコンRNAを作製し、そのレプリコンRNAを培養細胞内に導入し、細胞内でレプリコンRNAを自律的に複製させるシステムである。これにより、培養細胞を用いてHCVの複製機構を解析することが可能になったが、これはHCVウイルスの増殖複製過程におけるウイルスRNA複製のみを評価することが可能な実験系であり、HCVウイルス粒子の感染細胞内の形成と細胞外への放出、さらに新たな細胞への感染という過程は解析できない。

現在、HCVウイルス粒子の形成と細胞外への放出、さらに新たな細胞への感染という過程を評価する方法としては、チンパンジーなどの動物を用いた実験系しかない（非特許文献5）。しかしながら、動物という生体をそのまま用いた実験系は、煩雑で解析が極めて困難である。したがって、HCVウイルス粒子の感染細胞内の形成と細胞外への放出、さらに新たな細胞への感染という過程を解析および、これらの過程の阻害を作用メカニズムとした抗HCV薬を作製するには、これらの過程を再現できる極めて単純化した実験系、すなわち、培養実験系でのHCVウイルス粒子の作製系を構築する必要がある。

また、細胞培養系を用いて安定してHCVウイルス粒子を供給可能になれば、ウイルスを弱毒化したり、分子生物学的手法を用いて非感染性のHCVウイルスを作製したりして、それをワクチンに用いることができる。

20 特許文献1 特開2001-17187号公報

特許文献2 国際出願PCT/JP03/15038

特許文献3 特願2003-329082

非特許文献1 Lohmann et al., Science, (1999) 285, p. 110-113

非特許文献2 Blight et al., Science, (2000) 290, p. 1972-1974

25 非特許文献3 Friebe et al., J. Virol., (2001) 75(24): p. 12047-12057

非特許文献4 Ikeda et al., J. Virol., (2002) 76(6): p. 2997-3006

非特許文献5 Kolykhalov et al., Science, (1997) 277, p. 570-574

非特許文献6 Kato et al., Gastroenterology, (2003) 125, p. 1808-1817

非特許文献 7 Yanagi et al., Proc. Natl. Acad. Sci., (1997) 96(16): p. 8738-8743

非特許文献 8 Okamoto et al., J. Gen. Virol., (1991) 73, p 2697-26704

非特許文献 9 Aoyagi et al., J. Clin. Microbiol., (1999) 37(6):  
5 p. 1802-1808

## 発明の開示

本発明は、これまで成功していない、HCV全長ゲノム配列を含むRNAを効率良く複製する方法、及び全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAを含有するHCV  
10 ウィルス粒子を細胞培養系により製造する方法、を提供することを目的とする。

本発明者らは、上記課題を解決すべく銳意研究を行った結果、HCVウイルス粒子を細胞培養系で作製する方法を開発した。すなわち、本発明は以下の通りである。

[1] 遺伝子型2aのC型肝炎ウイルスのゲノムRNAの、5' 非翻訳領域、coreタンパク質コード配列、E1タンパク質コード配列、E2タンパク質コード配列、NS2タンパク質コード配列、NS3タンパク質コード配列、NS4Aタンパク質コード配列、NS4Bタンパク質コード配列、NS5Aタンパク質コード配列、NS5Bタンパク質コード配列、及び3' 非翻訳領域と、少なくとも1つの選択マーカー遺伝子及び／又は少なくとも1つのリポーター遺伝子と、少なくとも1つのIRES配列と、を含む塩基配列からなる、レプリコンRNA。

このレプリコンRNAにおいては、好ましくは、前記塩基配列が、前記の5' 非翻訳領域、少なくとも1つの選択マーカー遺伝子及び／又は少なくとも1つのリポーター遺伝子、少なくとも1つのIRES配列、coreタンパク質コード配列、E1タンパク質コード配列、E2タンパク質コード配列、NS2タンパク質コード配列、NS3タンパク質コード配列、NS4Aタンパク質コード配列、NS4Bタンパク質コード配列、NS5Aタンパク質コード配列、NS5Bタンパク質コード配列、及び3' 非翻訳領域を、5' から3' 方向へこの順番で含む。

このレプリコンRNAのより好ましい実施形態では、遺伝子型2aのC型肝炎ウイルスのゲノムRNAが、配列番号1 2に示す塩基配列からなるRNAである。

このレプリコンRNAのさらに好ましい実施形態では、5' 非翻訳領域が配列番号 1 に示す塩基配列からなり、coreタンパク質コード配列が配列番号 2 に示す塩基配列からなり、E1タンパク質コード配列が配列番号 3 に示す塩基配列からなり、E2タンパク質コード配列が配列番号 4 に示す塩基配列からなり、NS2タンパク質コード配列が配列番号 5 に示す塩基配列からなり、NS3タンパク質コード配列が配列番号 6 に示す塩基配列からなり、NS4Aタンパク質コード配列が配列番号 7 に示す塩基配列からなり、NS4Bタンパク質コード配列が配列番号 8 に示す塩基配列からなり、NS5Aタンパク質コード配列が配列番号 9 に示す塩基配列からなり、NS5Bタンパク質コード配列が配列番号 10 に示す塩基配列からなり、3' 非翻訳領域が配列番号 11 に示す塩基配列からなる。

[2] 以下の(a)又は(b)のRNAからなるレプリコンRNA。

(a) 配列番号 1 3 に示す塩基配列からなるRNA。

(b) 配列番号 1 3 に示す塩基配列において 1 ~ 1 0 0 個の塩基が欠失、置換又は付加された塩基配列からなるRNAであって、自律複製能及びウイルス粒子產生能を有するRNA。

[3] 上記[1]又は[2]記載のいずれかのレプリコンRNAを細胞に導入することを含む、該レプリコンRNAを複製しつつウイルス粒子を產生する細胞を製造する方法。

この方法では、細胞が増殖性細胞であることが好ましい。あるいは、この方法における細胞は、真核細胞であることが好ましい。

この方法では、好ましくは、真核細胞はヒト肝由来細胞、ヒト子宮頸由来細胞、又はヒト胎児腎由来細胞である。さらに好ましくは、真核細胞がHuh7細胞、HepG2細胞、IMY-N9細胞、HeLa細胞、又は293細胞である。

[4] 上記[3]記載の方法により製造される、レプリコンRNAを複製しつつウイルス粒子を產生する細胞。

[5] 上記[4]記載の細胞を培養してウイルス粒子を產生させることを含む、C型肝炎ウイルス粒子の製造方法。

[6] 上記[5]記載の方法により製造される、C型肝炎ウイルス粒子。

[7] 上記[4]記載の細胞を培養し、培養物中のウイルス粒子を他の細胞に感染させることを含む、C型肝炎ウイルス感染細胞を製造する方法。

[8] 上記[7]記載の方法によって製造される、C型肝炎ウイルス感染細胞。

[9] 被験物質の存在下で、下記(a)～(c)：

(a) 上記[4]記載の細胞

(b) 上記[8]記載のC型肝炎ウイルス感染細胞、並びに

5 (c) 上記[6]記載のC型肝炎ウイルス粒子及びC型肝炎ウイルス感受性細胞、  
のうちの少なくとも1つを培養し、得られる培養物中のレプリコンRNA又はウイ  
ルス粒子を検出することを含む、抗C型肝炎ウイルス物質をスクリーニングする  
方法。

[10] 上記[6]記載のC型肝炎ウイルス粒子又はその一部分を含有するC型肝炎ワ  
クチン。

[11] 上記[6]記載のC型肝炎ウイルス粒子又はその一部分を抗原として使用して、  
C型肝炎ワクチンを製造する方法。

[12] 上記[1]又は[2]記載のいずれかのレプリコンRNAを使用して、遺伝子治療の  
ための肝細胞指向性ウイルスベクターを製造する方法。

15 [13] 上記[12]に記載の方法により製造される、肝細胞指向性ウイルスベクター。

[14] 外来遺伝子をコードするRNAを上記[1]又は[2]記載のいずれかのレプリコン  
RNA中に挿入し、それを細胞中に導入することを含む、該細胞内で外来遺伝子を  
複製及び／又は発現させる方法。

[15] 配列番号1～2に示す塩基配列からなるRNAを細胞に導入することを含む、該  
RNAを複製しあつウイルス粒子を產生する細胞を製造する方法。

[16] 配列番号1～2に示す塩基配列からなるRNAを細胞に導入し、その細胞を培養  
してウイルス粒子を產生させることを含む、C型肝炎ウイルス粒子の製造方法。

[17] 細胞が増殖性細胞である、上記[15]又は[16]記載の方法。

[18] 配列番号1～2に示す塩基配列からなるRNAに外来遺伝子をコードするRNAを  
挿入し、それを細胞に導入し、その細胞を培養してウイルス粒子を產生させること  
を含む、外来遺伝子を含有するウイルスベクターを製造する方法。

[19] 上記[6]記載のC型肝炎ウイルス粒子に対する抗体。

本明細書は本願の優先権の基礎である日本国特許出願2004-045489号の明細書  
及び図面に記載される内容を包含する。

### 図面の簡単な説明

図1は、本発明の全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAを作製するための鑄型DNAの構築手順を示す概略図である。図1の上段は、T7プロモーターの下流に全長HCVゲノムを挿入して作製したプラスミドクローンpJFH1の構造を示す。

図1の下段は、pJFH1のT7プロモーターと5'非翻訳領域の下流にネオマイシン耐性遺伝子とEMCV IRESを含むDNA断片を挿入した、全長HCVゲノム配列を含むプラスミドクローンpFGREP-JFH1の構造を示す。図中の記号は以下のとおりである。

T7: T7 RNAプロモーター、5'UTR: 5'非翻訳領域、C: コアタンパク質、E1、E2: エンベロープタンパク質。NS2、NS3、NS4A、NS4B、4A、4B: 非構造タンパク質。3'UTR: 3'非翻訳領域。Age I、Pme I、Xba I: 制限酵素Age I、Pme I及びXba Iの切断部位。GDD: NS5Bタンパク質の活性中心に相当するアミノ酸モチーフGDDの位置。neo: ネオマイシン耐性遺伝子、EMCV IRES: EMCV IRES(脳心筋炎ウイルスの内部リボソーム結合部位)。

図2は、全長HCVゲノムRNAであるrJFH-1を導入したHuh7細胞におけるrJFH-1の複製を示すノーザンプロット解析の結果を示す写真である。

図3は、培地中のHCVコアタンパク質の定量の結果を示す。白抜きの円はrJFH1を導入した細胞、黒塗りの円はrJFH1/GNDを導入した細胞を示す。

図4は、rJFH-1を導入したHuh7細胞の培養上清をショ糖密度勾配により分画した各画分についての、HCVコアタンパク質量及び全長HCVゲノムRNA量、並びに比重を示すグラフである。黒塗りの円はHCVコア(core)タンパク質、白抜きの円は全長HCVゲノムRNA、網掛けの円は比重を示す。

図5は、全長HCVレプリコンRNAであるrFGREP-JFH1をトランスフェクションしたHuh7細胞のコロニー形成を示す写真である。

図6は、rFGREP-JFH1のHuh7細胞へのトランスフェクションにより樹立した全長HCVレプリコンRNA複製細胞クローンにおける、全長HCVレプリコンRNAの複製を示す写真である。

図7は、ゲノムDNA中へのネオマイシン耐性遺伝子の組み込みの有無を確認す

るための、宿主細胞のゲノムDNAを鑄型とし、ネオマイシン耐性遺伝子特異的プライマーを用いてPCR増幅した結果を示す写真である。M：DNAサイズマーカー、P：陽性対照、N：Huh7細胞。

図8は、全長HCVレプリコンRNAであるrFGREP-JFH1を導入したHuh7細胞におけるcoreタンパク質の発現を示すウェスタンプロット解析の結果を示す写真である。

図9は、全長HCVレプリコンRNAであるrFGREP-JFH1を導入したHuh7細胞におけるNS3タンパク質の発現を示すウェスタンプロット解析の結果を示す写真である。

図10は、全長HCVレプリコンRNAであるrFGREP-JFH1を導入したHuh7細胞におけるNS5Aタンパク質の発現を示すウェスタンプロット解析の結果を示す写真である。

図11は、rFGREP-JFH1を導入したHuh7細胞の培養上清をショ糖密度勾配により分画した各画分についての、HCV coreタンパク質の量及び全長HCVレプリコンRNA量、並びに比重を示すグラフである。黒塗りの円はHCVコア(core)タンパク質、白抜きの円は全長HCVレプリコンRNA、網掛けの円は比重を示す。

図12は、全長HCVレプリコンRNA複製細胞の培養上清に含まれるウイルス粒子を添加したHuh7細胞のコロニー形成を示す写真である。

#### 発明を実施するための最良の形態

以下、本発明について詳細に説明する。

##### 1. 全長HCVレプリコンRNA

C型肝炎ウイルス(HCV)のゲノムは、約9600ヌクレオチドからなる(+)鎖の一本鎖RNAである。このゲノムRNAは、5'非翻訳領域(5'NTR又は5'UTRとも表記する)、構造領域と非構造領域とから構成される翻訳領域、及び3'非翻訳領域(3'NTR又は3'UTRとも表記する)からなる。その構造領域にはHCVの構造タンパク質がコードされており、非構造領域には複数の非構造タンパク質がコードされている。

このようなHCVの構造タンパク質(core、E1、及びE2)と非構造タンパク質(NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A、及びNS5B)は、翻訳領域から一続きのポリプロテインとして翻訳された後、プロテアーゼによる限定分解を受けて遊離、生成さ

れる。これらの構造タンパク質及び非構造タンパク質（すなわち、HCVのウイルスタンパク質）のうち、coreはコアタンパク質であり、E1及びE2はエンベロープタンパク質である。非構造タンパク質はウイルス自身の複製に関与するタンパク質であり、NS2はメタロプロテアーゼ活性、NS3はセリンプロテアーゼ活性（N末端側の3分の1）とヘリカーゼ活性（C末端側の3分の2）を有することが知られている。さらに、NS4AはNS3のプロテアーゼ活性に対するコファクターであり、NS5BはRNA依存RNAポリメラーゼ活性を有することも報告されている。

本発明者らは、HCVゲノムRNAを用いて、自律的に複製可能であり、かつウイルス粒子產生能を有するレプリコンRNAを構築した。

本明細書では、自律複製能を有しておりHCVゲノムRNAを改変して作製されたRNAを、「レプリコンRNA」又は「RNAレプリコン」と称する。本明細書においてHCV由来のレプリコンRNAは、HCV-RNAレプリコンとも称する。本明細書では、HCVゲノムRNAの全長を含む本発明のレプリコンRNAを、「全長HCVレプリコンRNA」と呼ぶ。本発明の全長HCVレプリコンRNAは、ウイルス粒子產生能を有する。

本発明の全長HCVレプリコンRNAの好適な実施形態では、C型肝炎ウイルスは、限定するものではないが、遺伝子型2aのC型肝炎ウイルスであることが好ましい。本発明において、「遺伝子型2aのC型肝炎ウイルス」「遺伝子型2aのHCV」とは、Simmondsら (Simmonds, P. et al, Hepatology, (1994) 10, p. 1321-1324を参照) による国際分類に従って遺伝子型2aと同定されるC型肝炎ウイルスを意味する。本発明における「遺伝子型2aのC型肝炎ウイルス」「遺伝子型2aのHCV」には、天然由来のHCVゲノムRNAを有するウイルスだけでなく、天然由来のHCVゲノム配列に人為的な改変を加えたゲノムRNAを有するウイルスも包含する。遺伝子型2aのHCVの具体例としては、JFH-1株（特開2002-171978号公報を参照）が挙げられる。

本明細書において「C型肝炎ウイルスのゲノムRNA」とは、C型肝炎ウイルスの一本鎖の(+)鎖センスRNAからなるゲノムの全長にわたる塩基配列を有するRNAを意味する。限定するものではないが、遺伝子型2aのC型肝炎ウイルスのゲノムRNAとしては、配列番号12に示す塩基配列からなるRNAが好ましい。

本発明に係る全長HCVレプリコンRNAの一つの実施形態は、C型肝炎ウイルスの

ゲノムRNA上の、5' 非翻訳領域、coreタンパク質コード配列、E1タンパク質コード配列、E2タンパク質コード配列、NS2タンパク質コード配列、NS3タンパク質コード配列、NS4Aタンパク質コード配列、NS4Bタンパク質コード配列、NS5Aタンパク質コード配列、NS5Bタンパク質コード配列、及び3' 非翻訳領域と、少なくとも  
5 1つの選択マーカー遺伝子又はリポーター遺伝子と、少なくとも1つのIRES配列と、を含む塩基配列からなる、レプリコンRNAである。

限定するものではないが、好ましくは、本発明の全長HCVレプリコンRNAは、5' 非翻訳領域、少なくとも1つの選択マーカー遺伝子又はリポーター遺伝子、少なくとも1つのIRES配列、coreタンパク質コード配列、E1タンパク質コード配列、  
10 E2タンパク質コード配列、NS2タンパク質コード配列、NS3タンパク質コード配列、NS4Aタンパク質コード配列、NS4Bタンパク質コード配列、NS5Aタンパク質コード配列、NS5Bタンパク質コード配列、及び3' 非翻訳領域を、5' から3' 方向へこの順番で含む。

本明細書において、「5' 非翻訳領域（5' NTR又は5' UTR）」、「coreタンパク質コード配列（core領域又はC領域）」、「E1タンパク質コード配列（E1領域）」、「E2タンパク質コード配列（E2領域）」、「N2タンパク質コード配列（NS2領域）」、「NS3タンパク質コード配列（NS3領域）」、「NS4Aタンパク質コード配列（NS4A領域）」、「NS4Bタンパク質コード配列（NS4B領域）」、「NS5Aタンパク質コード配列（NS5A領域）」、「NS5Bタンパク質コード配列（NS5B領域）」、  
20 及び「3' 非翻訳領域（3' NTR又は3' UTR）」、並びにその他の特定の領域若しくは部位は、遺伝子型2aのC型肝炎ウイルスであるJFH-1株（特開2002-171978号公報）のゲノムの全領域からなる全長ゲノムRNA（配列番号12）を基準として定めることができる。

あるいは、本願発明におけるC型肝炎ウイルス（HCV）ゲノム中の部分領域又はその部位は、JFH-1株のゲノムRNA（配列番号12）の部分塩基配列である配列番号1～11に示す配列を基準として定めることもできる。JFH-1株の全長ゲノムRNA（JFH-1クローン由来）（配列番号12）の「5' 非翻訳領域」は、配列番号1に示す塩基配列からなる。また、「coreタンパク質コード配列」は配列番号2に示す塩基配列からなる。「E1タンパク質コード配列」は、配列番号3に示す塩

基配列からなる。「E2タンパク質コード配列」は、配列番号4に示す塩基配列からなる。「NS2タンパク質コード配列」は、配列番号5に示す塩基配列からなる。「NS3タンパク質コード配列」は、配列番号6に示す塩基配列からなる。「NS4Aタンパク質コード配列」は、配列番号7に示す塩基配列からなる。「NS4Bタンパク質コード配列」は、配列番号8に示す塩基配列からなる。「NS5Aタンパク質コード配列」は、配列番号9に示す塩基配列からなる。「NS5Bタンパク質コード配列」は、配列番号10に示す塩基配列からなる。「3'非翻訳領域」は、配列番号11に示す塩基配列からなる。

例えば、HCV由来のRNA配列中の領域又は部位は、そのRNA配列を配列番号1～12に示す塩基配列に対してアラインメントし、配列番号1～12の配列中の塩基番号を基準として定めてもよい。このようなアラインメントにおいては、配列間でギャップ、付加、欠失、置換等が存在していてもよい。

本発明のさらなる好適な実施形態では、本発明の全長HCVレプリコンRNAに含まれる5'非翻訳領域、coreタンパク質コード配列、E1タンパク質コード配列、E2タンパク質コード配列、NS2タンパク質コード配列、NS3タンパク質コード配列、NS4Aタンパク質コード配列、NS4Bタンパク質コード配列、NS5Aタンパク質コード配列、NS5Bタンパク質コード配列、及び3'非翻訳領域が、それぞれ配列番号1～11に示す塩基配列を有することが好ましい。

本発明に係る全長HCVレプリコンRNAの好適な実施形態は、配列番号1～11に示す塩基配列と、少なくとも1つの選択マーカー遺伝子及び／又はリポーター遺伝子と、少なくとも1つのIRES配列と、からなるレプリコンRNAである。

本発明において「選択マーカー遺伝子」とは、その遺伝子が発現された細胞だけが選択されるような選択性を細胞に付与することができる遺伝子を意味する。選択マーカー遺伝子の一般的な例としては抗生物質耐性遺伝子が挙げられる。本発明において好適な選択マーカー遺伝子の例としては、ネオマイシン耐性遺伝子、チミジンキナーゼ遺伝子、カナマイシン耐性遺伝子、ピリチアミン耐性遺伝子、アデニリルトランスフェラーゼ遺伝子、ゼオシン耐性遺伝子、ピューロマイシン耐性遺伝子などが挙げられるが、ネオマイシン耐性遺伝子、チミジンキナーゼ遺伝子が好ましく、ネオマイシン耐性遺伝子がさらに好ましい。但し本発明における

る選択マーカー遺伝子はこれらに限定されるものではない。

また本発明において「リポーター遺伝子」とは、その遺伝子発現の指標となる遺伝子産物をコードするマーカー遺伝子を意味する。リポーター遺伝子の一般的な例としては、発光反応や呈色反応を触媒する酵素の構造遺伝子が挙げられる。

5 本発明において好適なリポーター遺伝子の例としては、トランスポゾンTn9由来のクロラムフェニコールアセチルトランスフェラーゼ遺伝子、大腸菌由来の $\beta$ グルクロニダーゼ若しくは $\beta$ ガラクトシダーゼ遺伝子、ルシフェラーゼ遺伝子、緑色蛍光タンパク質遺伝子、クラゲ由来のエクオリン遺伝子、分泌型胎盤アルカリフォスファターゼ(SEAP)遺伝子等が挙げられる。但し本発明におけるリポーター遺伝子はこれらに限定されるものではない。

上記の選択マーカー遺伝子やリポーター遺伝子は、全長HCVレプリコンRNA中にどちらか一方のみが含まれていてもよいし、両方が含まれていてもよい。選択マーカー遺伝子又はリポーター遺伝子は、全長HCVレプリコンRNAに1つ含まれてもよいし、2つ以上含まれていてもよい。

15 本発明における「IRES配列」とは、RNAの内部にリボソームを結合させて翻訳を開始させることができ可能な内部リボゾーム結合部位を意味する。本発明におけるIRES配列の好適な例としては、以下に限定するものではないがEMCV IRES(脳心筋炎ウイルスの内部リボゾーム結合部位)、FMDV IRES、HCV IRES、等が挙げられるが、EMCV IRES、及びHCV IRESがより好ましく、EMCV IRESが最も好ましい。

20 本発明に係る全長HCVレプリコンRNAのさらに好ましい1つの実施形態は、配列番号13に示す塩基配列からなるRNAである。さらに、この配列番号13に示す塩基配列において、1～100個、好ましくは1～30個、より好ましくは1～10個、さらに好ましくは1～6個、最も好ましくは1～数個(2～5個)の塩基が欠失、置換又は付加された塩基配列からなるRNAであって、かつ、自律複製能及びウイルス粒子產生能を有するRNAも、好適な実施形態として本発明の全長HCVレプリコンRNAの範囲に含まれる。

本発明に係る全長HCVレプリコンRNAは、その全長HCVレプリコンRNAを導入する細胞内で発現させたい任意の外来遺伝子をコードするRNAをさらに含んでもよい。外来遺伝子をコードするRNAは、5'非翻訳領域の下流に連結してもよいし、選択

マーカー遺伝子若しくはリポーター遺伝子の上流又は下流に連結させてもよいし、  
3' 非翻訳領域の上流に連結してもよい。また、coreタンパク質コード配列、E1タ  
ンパク質コード配列、E2タンパク質コード配列、NS2タンパク質コード配列、NS3  
タンパク質コード配列、NS4Aタンパク質コード配列、NS4Bタンパク質コード配列、  
5 NS5Aタンパク質コード配列、及びNS5Bタンパク質コード配列のいずれかの間に挿  
入してもよい。

外来遺伝子をコードするRNAを含む全長HCVレプリコンRNAは、導入された細胞  
内で翻訳される際に、該外来遺伝子にコードされる遺伝子産物を発現するこ  
とができる。従って外来遺伝子をコードするRNAを含む全長HCVレプリコンRNAは、外  
10 来遺伝子の遺伝子産物を細胞内で生成させることを目的とする場合にも、好適に  
使用することができる。

本発明に係る全長HCVレプリコンRNAは、リボザイムを含んでいてもよい。全長  
HCVレプリコンRNA中の選択マーカー遺伝子及び／又はリポーター遺伝子の下流に  
リボザイムを連結しておき、そのリボザイムの自己切断活性によって、選択マ  
15 カー遺伝子及び／又はリポーター遺伝子が、IRES配列、coreタンパク質コード配  
列、E1タンパク質コード配列、E2タンパク質コード配列、NS2タンパク質コード  
配列、NS3タンパク質コード配列、NS4Aタンパク質コード配列、NS4Bタンパク質  
コード配列、NS5Aタンパク質コード配列、NS5Bタンパク質コード配列、及び3' 非  
翻訳領域から切り離されるようにすることもできる。

20 本発明に係る全長HCVレプリコンRNAにおいては、上述したような選択マーカー  
遺伝子及び／若しくはリポーター遺伝子、ウイルスタンパク質をコードする配列、  
並びに外来遺伝子又はリボザイム等が、全長HCVレプリコンRNAから正しい読み枠  
で翻訳されるように連結される。全長HCVレプリコンRNAにコードされるタンパク  
質は、一続きのポリペプチドとして翻訳され発現された後でプロテアーゼによ  
25 つて各タンパク質へと切断され、遊離するように、プロテアーゼ切断部位等を介  
して互いに連結させることが好ましい。

本発明はまた、本願発明のレプリコンRNAをコードするDNAベクター、好ましく  
は発現ベクターにも関する。

なお、本発明においてRNAが「自律複製能を有する」とは、RNAを細胞中に導入

したときに、そのRNAが自己増殖することを意味する。限定するものではないが、RNAの自律複製能は、例えば、対象とするRNAをHuh7細胞中にトランスフェクションし、そのHuh7細胞を培養し、得られる培養物中の細胞から抽出したRNAについて、導入したRNAを特異的に検出可能なプローブを用いたノーザンプロットハイブリダイゼーションによりRNAを検出することによって、確認することができる。  
5 自律複製能を確認するための具体的な操作は、本明細書の実施例に記載されたコロニー形成能の測定、HCVタンパク質の発現確認、レプリコンRNAの検出等の記載に例示されている。

さらに本発明において、RNAが「ウイルス粒子産生能を有する」とは、そのRNAを細胞（例えば、Huh7細胞などの培養細胞）に導入したときに、該細胞中でウイルス粒子が産生されることを意味する。ウイルス粒子産生能は、例えば、対象とするRNAを導入した細胞の培養上清について、そのRNAに特異的なプライマーを用いたRT-PCR法での検出を行う方法、又はその培養上清をショ糖濃度勾配法にかけてウイルス粒子を分離し、HCVタンパク質を検出する方法などにより、確認する  
10 ことができる。これらの具体的な操作は、本明細書の実施例に記載されたコロニー形成能の測定、HCVタンパク質の発現確認、レプリコンRNAの検出等の記載に例示されている。

## 2. 全長HCVレプリコンRNAの作製

20 本発明に係る全長HCVレプリコンRNAは、当業者に公知である任意の遺伝子工学的手法を用いて作製することができる。限定するものではないが、全長HCVレプリコンRNAは、例えば遺伝子型2aのC型肝炎ウイルスとしてJFH-1株を用いる場合には以下のような方法で作製することができる。

まず、JFH-1株のゲノム全領域のRNA（配列番号12）に対応するDNA（この配列は、国際DNAデータバンクにアクセスション番号AB047639として登録されている）を、常法により再構築してRNAプロモーターの下流に挿入して、DNAクローンを作製する。ここで、「RNAに対応するDNA」とは、当該RNAの塩基配列のU（ウラシル）をT（チミン）に置き換えた塩基配列からなるDNAを意味する。前記RNAプロモーターは、プラスミドクローン中に含まれるものであることが好ましい。好  
25

適なRNAプロモーターとしては、限定するものではないが、T7 RNAプロモーター、SP6 RNAプロモーター、SP3 RNAプロモーターが挙げられるが、T7 RNAプロモーターが特に好ましい。

次に、選択マーカー遺伝子及び／又はレポーター遺伝子、並びにIRES配列をコードするDNAを上記DNAクローンに挿入する。5' 非翻訳領域の下流に、選択マーカー遺伝子及び／又はレポーター遺伝子を、さらにその下流にIRES配列を、挿入することが好ましい。

次いで、以上のようにして作製されたDNAクローンを鋳型として、RNAポリメラーゼによりRNAを合成する。RNA合成は、5' 非翻訳領域から、常法により開始させることができる。DNAクローンがプラスミドクローンの場合には、プラスミドクローンから制限酵素によって切り出したDNA断片を鋳型として用いてRNAを合成することもできる。なお、合成されるRNAの3' 末端がウイルスゲノムRNAの3' 非翻訳領域の末端と一致しており、他の配列が付加されたり削除されたりしないことが好ましい。このようにして合成されるRNAが、本発明に係る全長HCVレプリコンRNAである。

### 3. HCV粒子の作製

上記のようにして作製される全長HCVレプリコンRNAを細胞に導入することにより、全長HCVレプリコンRNAを複製することができ、好ましくは持続的に複製することができる（すなわち、レプリコンRNAの複製能を有する）組換え細胞を得ることができる。本明細書では、全長HCVレプリコンRNAを複製している組換え細胞を「全長HCVレプリコンRNA複製細胞」と称する。

この全長HCVレプリコンRNA複製細胞は、ウイルス粒子を産生することができる。産生されたウイルス粒子は、HCVのウイルスタンパク質から構成されるウイルス殻中に全長HCVレプリコンRNAを含有する。従って本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞から産生されるウイルス粒子は、HCV粒子である。すなわち本発明では、全長HCVレプリコンRNA複製細胞を培養することにより、HCV粒子を細胞培養系にて作製することができる。好ましくは、全長HCVレプリコンRNA複製細胞を培養し、その培養物（好ましくは培養上清）中に産生されたウイルス粒子を採取すること

により、HCV粒子を取得することができる。

あるいは、HCV粒子は、全長HCVゲノムRNAを導入して得られる組換え細胞によっても産生される。本発明に係る全長HCVゲノムRNA（好ましくはJFH-1クローン由来の全長HCVゲノムRNA、より好ましくは配列番号12に示す塩基配列を有するRNA）を導入した細胞では、その全長HCVゲノムRNAが高効率で複製される。本明細書では、全長HCVゲノムRNAを複製している組換え細胞を「全長HCVゲノムRNA複製細胞」と称する。この全長HCVゲノムRNA複製細胞によって産生されるウイルス粒子は、HCVのウイルスタンパク質から構成されるウイルス殻中に全長HCVゲノムRNAを含有する。すなわち、本発明の全長HCVゲノムRNAを導入した細胞から産生されるウイルス粒子は、HCV粒子である。限定するものではないが、好ましくは、JFH-1クローン由来の全長HCVゲノムRNA（例えば、配列番号12に示す塩基配列を有するRNA）を導入した細胞を培養することによって、HCV粒子を細胞培養系にて作製することができる。例えば、全長HCVゲノムRNA（例えば、配列番号12に示す塩基配列を有するRNA）を導入した細胞を培養し、その培養物（好ましくは、培養上清）中に産生されたHCV粒子を採取することにより、HCV粒子を取得することができる。

上記の全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAを導入する細胞としては、継代培養することが可能な細胞であれば任意の細胞を用いることができるが、真核細胞であることが好ましく、ヒト細胞であることがより好ましく、ヒト肝由来細胞、ヒト子宮頸由来細胞、又はヒト胎児腎由来細胞であることがさらに好ましい。これらの細胞としては、癌細胞株や幹細胞株などを含む増殖性細胞が好ましく、Huh7細胞、HepG2細胞、IMY-N9細胞、HeLa細胞、又は293細胞等がさらに好ましい。これらの細胞は、市販のものを利用してもよいし、細胞寄託機関から入手して使用してもよいし、任意の細胞（例えば癌細胞又は幹細胞）から株化した細胞を使用してもよい。

全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAの細胞内への導入は、当業者には公知の任意の技術を使用して行うことができる。そのような導入法としては、例えば、エレクトロポレーション、パーティクルガン法、リポフェクション法、リン酸カルシウム法、マイクロインジェクション法、DEAEセファロース法等が挙げ

られるが、エレクトロポレーションによる方法が特に好ましい。

全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAは、単独で導入してもよいし、他の核酸と混合させたものを導入してもよい。導入するRNA量を一定にしながら全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAの導入量を変更したい場合には、所望の導入量の全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAを、導入する細胞から抽出したトータル細胞性RNAと混合して一定のRNA総量とし、それを細胞内導入に用いればよい。細胞内導入に用いるレプリコンRNAの量は、使用する導入法に応じて決めればよいが、好ましくは1ピコグラム～100マイクログラム、より好ましくは10ピコグラム～10マイクログラムの量を使用する。

全長HCVレプリコンRNA複製細胞は、全長HCVレプリコンRNAに含まれる選択マークー遺伝子又はリポーター遺伝子の発現を利用して、選択することができる。具体的には、例えば、そのような全長HCVレプリコンRNAの細胞内導入処理を施した細胞を、選択マークー遺伝子の発現により選択可能となる培地において培養すればよい。あるいは、そのような全長HCVレプリコンRNAの細胞内導入処理を施した細胞を培養した後、リポーター遺伝子（例えば、蛍光タンパク質）の発現について検出すればよい。

一例として、全長HCVレプリコンRNAにネオマイシン耐性遺伝子が選択マークー遺伝子として含まれる場合には、その全長HCVレプリコンRNAを用いてエレクトロポレーション処理した細胞を培養ディッシュに播種し、12～72時間、好ましくは16～48時間培養した後に、培養ディッシュにG418（ネオマイシン）を0.05ミリグラム/ミリリットル～3.0ミリグラム/ミリリットルの濃度で添加し、その後、週に2回培養液を交換しながら培養を継続し、播種時から好ましくは10日間～40日間、より好ましくは14日間～28日間培養した後にクリスタルバイオレットで生存細胞を染色することにより、導入された全長HCVレプリコンRNAが複製されている細胞を、コロニーとして選択することができる。

形成されたコロニーからは、常法により細胞をクローン化することができる。こうして得られる全長HCVレプリコンRNAを複製している細胞クローンを、本明細書では「全長HCVレプリコンRNA複製細胞クローン」と称する。本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞は、全長HCVレプリコンRNA複製細胞クローンを包含する。

全長HCVレプリコンRNA複製細胞については、複製された全長HCVレプリコンRNAを検出し、全長HCVレプリコンRNA中の選択マーカー遺伝子又はリポーター遺伝子が細胞の宿主ゲノムDNAに組み込まれていないことを確認し、さらにHCVタンパク質の検出を行うことにより、実際に該細胞又は細胞クローンが全長HCVレプリコンRNAを複製していることを確認することができる。

複製された全長HCVレプリコンRNAの検出は、当業者には公知の任意のRNA検出法に従って行えばよいが、例えば、細胞から抽出したトータルRNAについて、導入された全長HCVレプリコンRNAに対して特異的なDNA断片をプローブとして用いるノーザンハイブリダイゼーション法を実施することにより検出することができる。

また全長HCVレプリコンRNA中の選択マーカー遺伝子又はリポーター遺伝子が細胞の宿主ゲノムDNAに組み込まれていないとの確認は、限定するものではないが、例えば、細胞から抽出したゲノムDNAについて該選択マーカー遺伝子又はリポーター遺伝子の少なくとも一部を増幅するPCRを行い、その増幅産物の有無を確認することによって行うことができる。増幅産物が確認された細胞では、宿主ゲノム中に選択マーカー遺伝子又はリポーター遺伝子が組み込まれていると判断されることから、全長HCVレプリコンRNA自体は複製されていない可能性がある。この場合、全長HCVレプリコンRNAが複製されているか否かを、次に説明するHCVタンパク質の検出によって、さらに確認することができる。

HCVタンパク質の検出は、例えば、導入された全長HCVレプリコンRNAから発現されるべきHCVタンパク質に対する抗体を、細胞から抽出したタンパク質と反応させることによって行うことができる。この方法は、当業者には公知の任意のタンパク質検出法によって行うことができるが、具体的には、例えば、細胞から抽出したタンパク質試料をニトロセルロース膜にプロッティングし、それに対して抗HCVタンパク質抗体（例えば、抗NS3特異的抗体、又はC型肝炎患者から採取した抗血清）を反応させ、さらにその抗HCVタンパク質抗体を検出することによって行うことができる。細胞から抽出したタンパク質中からHCVタンパク質が検出されれば、その細胞は、全長HCVレプリコンRNAを複製し、HCVタンパク質を発現しているものと判断することができる。

本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞又は全長HCVゲノムRNA複製細胞のウイルス粒子產生能は、当業者には公知の任意のウイルス検出法に従って確認すればよい。例えば、ウイルス粒子を產生していると思われる細胞の培養上清をショ糖密度勾配により分画し、各分画の密度、HCVコアタンパク質濃度、及び全長HCVレプリコンRNA若しくは全長HCVゲノムRNAの量を測定した結果、HCVコアタンパク質と全長HCVレプリコンRNA若しくは全長HCVゲノムRNAのピークが一致し、しかもそのピークが検出される画分の密度が、培養上清を25% NP40（ポリオキシエチレン(9)オクチルフェニルエーテル[Polyoxyethylene(9)Octylphenyl Ether]）で処理してから分画した場合の同画分の密度と比較して軽い（例えば、1.18～1.20 mg）場合には、該細胞はウイルス粒子產生能を有すると判定することができる。

培養上清中に放出されたHCVウイルス粒子は、例えば、coreタンパク質、E1タンパク質、又はE2タンパク質に対する抗体を用いて検出することもできる。また、培養上清中の全長HCVレプリコンRNAを、特異的プライマーを用いたRT-PCR法により増幅して検出することによって、HCVウイルス粒子の存在を間接的に検出することもできる。

#### 4. 本発明のHCV粒子の他の細胞への感染

本発明のHCVウイルス粒子は、細胞（好ましくはHCV感受性細胞）への感染能を有する。本発明は、全長HCVレプリコンRNA複製細胞又は全長HCVゲノムRNA複製細胞を培養し、得られた培養物（好ましくは、培養上清）中のウイルス粒子を他の細胞（好ましくはHCV感受性細胞）に感染させることを含む、C型肝炎ウイルス感染細胞を製造する方法にも関する。本発明において、HCV感受性細胞とは、HCVに対し感染性を有する細胞であり、好ましくは肝臓細胞またはリンパ球系細胞であるが、これらに限定されるものでは無い。具体的には、肝臓細胞としては初代肝臓細胞や、Huh7細胞、HepG2細胞、IMY-N9細胞、HeLa細胞、203細胞などが挙げられ、リンパ球系細胞としてはMolt4細胞や、HPB-Ma細胞、Daudi細胞などが挙げられるが、これらに限定されるものでは無い。

本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞において產生されたHCV粒子を細胞（例えば、HCV感受性細胞）に感染させると、その感染細胞中では全長HCVレプリ

コンRNAが複製され、さらにウイルス粒子が形成される。全長HCVレプリコンRNA複製細胞において產生されたウイルス粒子に感染した細胞は、選択マーカー遺伝子及び／又はリポーター遺伝子を発現するので、その発現を利用して選択及び／又は検出することが可能である。本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞において產生されたウイルス粒子を細胞に感染させることにより、全長HCVレプリコンRNAが細胞内で複製され、ウイルス粒子をさらに製造することができる。

さらに、本発明の全長HCVゲノムRNA複製細胞において產生されたHCV粒子を細胞（例えば、HCV感受性細胞）に感染させることにより、その感染細胞中で全長HCVゲノムRNAが複製され、ウイルス粒子が形成される。本発明の全長HCVゲノムRNA複製細胞において產生されたウイルス粒子を細胞に感染させることにより、全長HCVゲノムRNAが細胞内で複製され、ウイルス粒子をさらに製造することができる。

本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞又は全長HCVゲノムRNA複製細胞において產生されたHCVウイルス粒子は、チンパンジーなどのHCVウイルスに感染しうる動物に感染して、HCV由来の肝炎を引き起こすことができる。

## 5. 本発明の他の実施形態

本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞では、全長HCVレプリコンRNAが高効率で複製される。また本発明の全長HCVゲノムRNA複製細胞でも、全長HCVゲノムRNAが高効率で複製される。従って、本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞又は全長HCVゲノムRNA複製細胞を用いて、全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAを高効率で製造することができる。

本発明では、全長HCVレプリコンRNA複製細胞を培養し、培養物（培養細胞及び／又は培養培地）からRNAを抽出し、それを電気泳動法にかけ、分離された全長HCVレプリコンRNAを単離精製することによって、全長HCVレプリコンRNAを製造することができる。全長HCVゲノムRNA複製細胞を用いた場合にも、同様の方法で全長HCVゲノムRNAを製造することができる。このようにして製造されるRNAは、C型肝炎ウイルスの全長ゲノム配列を含む。この場合、C型肝炎ウイルスの全長ゲノム配列は、選択マーカー遺伝子及び／又はリポーター遺伝子並びにIRES配列に

よって分断されていてもよい。C型肝炎ウイルスの全長ゲノム配列を含むRNAの製造方法が提供されることにより、C型肝炎ウイルスゲノムに関してより詳細な分析が可能となる。

さらに本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞又は全長HCVゲノムRNA複製細胞  
5 は、HCVタンパク質を製造するために好適に使用することができる。HCVタンパク質の製造は、当業者に周知の任意の方法によって行えばよいが、例えば、全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAを細胞に導入して組換え細胞を作製し、該組換え細胞を培養し、得られる培養物（培養細胞及び／又は培養培地）から常法によりタンパク質を回収することによって行えばよい。

また本発明のHCVウイルス粒子は、肝細胞指向性を有しうる。そのため本発明の全長HCVレプリコンRNAを使用して、肝細胞指向性ウイルスベクターを製造することができる。このウイルスベクターは、遺伝子治療用に好適に用いられる。本発明では、外来遺伝子をコードするRNAを全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAに組み込み、そのRNAを細胞に導入することにより、該外来遺伝子を細胞中に導入し、細胞内で複製させ、さらに発現させることができる。さらに、全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNA中のE1タンパク質コード配列、及び／又はE2タンパク質コード配列を、他の生物種由来のウイルスの外殻タンパク質に変換したRNAを作製することにより、そのRNAを様々な生物種の細胞に感染させることも可能となる。この場合にも、全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAにさらに外来遺伝子を組み込んで、それを、該外来遺伝子を肝細胞で発現させるための肝細胞指向性ウイルスベクターとして使用することができる。  
10  
15  
20  
25

本発明は、配列番号1～2に示す塩基配列からなるRNAに外来遺伝子をコードするRNAを挿入し、それを細胞に導入し、その細胞を培養してウイルス粒子を產生させることを含む、外来遺伝子を含有するウイルスベクターを製造する方法にも関する。

本発明は、本発明に係るHCV粒子又はその一部分をワクチン抗原として含有するC型肝炎ワクチン、及び本発明に係るHCV粒子又はその一部分を抗原として用いてC型肝炎ワクチンを製造する方法も、提供する。

具体的には、作製されたHCV粒子を直接ワクチンとして使用することもできる

し、当該分野で既知の方法により弱毒化または不活化して用いることもできる。例えば、調製したHCV粒子を、カラムクロマトグラフィー、ろ過、遠心等により精製することにより、HCVワクチン原液を得た後、かかる原液から、弱毒生HCVワクチンあるいは不活化HCVワクチンを調製すればよい。尚、ウイルスの不活化は、  
5 ホルマリン、 $\beta$ -プロピオラクトン、グルタルジアルデヒド等の不活化剤を、例えば、ウイルス浮遊液に添加して混合し、ウイルスと反応させることによって達成することができる (Appaiahgari et al., Vaccine, (2004) 22(27-28), p. 3669-3675)。

本発明のワクチンの製造には、HCVレプリコンRNAに公知の技術を用いて変異を導入し病原性を原弱もしくは消失させたものを使用することも可能である。  
10

本発明のワクチンは、溶液または懸濁液のいずれかとして、投与可能に調製される。液体中の溶解または懸濁に適した固形物の形態で調製することができる。調製物は乳濁され、またはリポソームにカプセル化され得る。HCV粒子などの活性免疫原性成分は、医薬上許容される、活性成分に適合した賦形剤がしばしば混合される。適切な賦形剤には、例えば、水、生理食塩水、デキストロース、グリセロール、エタノールなど、およびそれらの混合物がある。さらに、所望であれば、ワクチンは、少量の補助剤（例えば加湿剤または乳化剤）、pH緩衝剤、および/またはワクチンの効能を高めるアジュバントを含有し得る。有効であり得るアジュバントの例は、限定されないが、以下を包含する。水酸化アルミニウム、  
15 N-アセチルムラミル-L-トレオニル-D-イソグルタミン (thr-MDP)、N-アセチルノルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミン (CGP 11637、nor-MDPと称せられる)、N-アセチルムラミル-L-アラニル-D-イソグルタミニル-L-アラニン-2-(1'-2'--ジパルミトイル-sn-グリセロー-3-ヒドロキシホスホリルオキシ)-エチルアミン  
20 (CGP 19835A、MTP-PEと称せられる)、およびRIBI。RIBIは、バクテリアから抽出した3成分、すなわちモノホスホリルリピドA、トレハロースジミコレート、および細胞壁骨格 (HPL+TDM+CWS) を2%スクアレン/Tween (登録商標) 80エマルジョン中に含有している。アジュバントの効能は、HCV粒子から構成されるワクチンを投与することにより生じ  
25

るこの免疫原性HCV粒子に対する抗体の量を測定することにより、決定され得る。

本ワクチンは、通常非経口的に、例えば皮下注射または筋内注射のような注射により投与される。他の投与経路に適した別の剤形として、坐薬、および場合により経口製剤が挙げられる。

5 所望により、アジュバント活性を有する1以上の化合物をHCVワクチンに加えることができる。アジュバントは、該免疫系の非特異的刺激因子である。それらは、HCVワクチンに対する宿主の免疫応答を増強する。当技術分野で公知のアジュバントの具体例としては、フロイント完全および不完全アジュバント、ビタミンE、非イオンプロック重合体、ムラミルジペプチド、サポニン、鉱油、植物油およびCarbopolが挙げられる。粘膜適用に特に適したアジュバントとしては、例えば、大腸菌 (*E. coli*) 易熱性毒素 (LT) またはコレラ (Cholera) 毒素 (CT) が挙げられる。他の適当なアジュバントとしては、例えば、水酸化アルミニウム、リン酸アルミニウムまたは酸化アルミニウム、油性乳剤 (例えば、Bayol (登録商標) またはMarcol 52 (登録商標) のもの) 、サポニンまたはビタミンEソリュビリゼートが挙げられる。好ましい形態においては、本発明のワクチンはアジュバントを含む。

10

15

例えば、皮下、皮内、筋肉内、静脈内に投与する注射剤において、本発明のHCVワクチンとともに含められる医薬上許容される担体または希釈剤の他の具体例としては、安定化剤、炭水化物 (例えば、ソルビトール、マンニトール、デンプン、ショ糖、グルコース、デキストラン) 、アルブミンまたはカゼインなどのタンパク質、ウシ血清または脱脂乳などのタンパク質含有物質、およびバッファー (例えば、リン酸バッファー) などが挙げられる。

20

坐薬に使用される従来の結合剤および担体には、例えば、ポリアルキレングリコールまたはトリグリセリドが含まれ得る。坐薬は、活性成分を0.5%から50%までの範囲で、好ましくは1%から20%までの範囲で含有する混合物から形成することができる。経口製剤は、通常用いられる賦形剤を含有してもよい。この賦形剤としては、例えば、製薬等級のマンニトール、ラクトース、デンプン、ステアリン酸マグネシウム、サツカリンナトリウム、セルロース、炭酸マグネシウムなどが挙げられる。

25

本発明のワクチンは、溶液、懸濁液、錠剤、丸剤、カプセル剤、持続放出製剤、または粉剤の剤形をとることができ、10%～95%、好ましくは25%～70%の活性成分（ウイルス粒子又はその一部分）を含有する。

本ワクチンは、投与剤形に適した方法で、そして予防および/または治療効果があるような量で投与される。投与されるべき量は、通常1回の投与当たり抗原を0.01μgから100,000μgまでの範囲であり、これは、処置される患者、その患者の免疫系での抗体合成能、および所望の防御の程度に依存し、経口、皮下、皮内、筋肉内、静脈内経路などの投与経路にも依存する。

本ワクチンは、単独投与スケジュールで、または好ましくは複合投与スケジュールで与えられ得る。複合投与スケジュールでは、接種の開始時期に1～10回の個別の投与を行い、続いて免疫応答を維持するおよびまたは強化するのに必要とされる時間間隔で、例えば2回目の投与として1～4ヶ月後に、別の投与を行ひ得る。必要であれば、数ヶ月後に引き続き投与を行ひ得る。投与レジメもまた、少なくとも部分的には、個々の患者の必要性により決定され、医師の判断に依存する。

さらに、免疫原性HCV粒子を含有するワクチンは、他の免疫制御剤（例えば、免疫グロブリン）と共に投与してもよい。

HCV粒子ワクチンは、健常人に投与して、健常人にHCVに対する免疫応答を誘導することにより、新たに生じ得るHCV感染に対して予防的に使用することもできる。更に、HCV粒子ワクチンをHCVに感染した患者に投与し、生体内にHCVに対する強い免疫反応を誘導することにより、HCVを排除する治療的ワクチンとして使用することもできる。

本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞又は全長HCVゲノムRNA複製細胞、又はそれらの細胞において産生されるウイルス粒子を感染させたC型肝炎ウイルス感染細胞を、例えばC型肝炎ウイルスの複製、ウイルス粒子の再構築、ウイルス粒子の放出を促進又は抑制する物質（抗C型肝炎ウイルス物質）をスクリーニングするための試験系として使用することもできる。具体的には、例えば、被験物質の存在下でそれらの細胞を培養し、得られる培養物中の全長HCVレプリコンRNA若しくは全長HCVゲノムRNA又はウイルス粒子を検出し、その被験物質がレプリコン

RNA若しくは全長HCVゲノムRNAの複製又はウイルス粒子の形成若しくは放出を促進又は抑制するかどうかを判定することにより、C型肝炎ウイルスの増殖を促進又は抑制する物質をスクリーニングすることができる。この場合、培養物中の全長HCVレプリコンRNA若しくは全長HCVゲノムRNAの検出は、上記細胞から抽出した  
5 RNA中の全長HCVレプリコンRNA若しくは全長HCVゲノムRNAの量、割合若しくは有無を測定することによるものであってよい。培養物（主として培養上清）中のウイルス粒子の検出は、培養上清中に含まれるHCVタンパク質の量、割合若しくは有無を検出するものであってよい。

また本培養物中のウイルス粒子を検出することにより、HCV感染患者血清から精製した免疫グロブリンが本発明によるHCVウイルス粒子の感染を阻止する能力を有するかどうかを検討することができる。この試験においては、本発明のHCVウイルス粒子により免疫したマウス、ラット、ウサギなどの血清を用いても良い。HCVの部分蛋白質、HCV遺伝子などによる免疫を利用してもよい。  
10 抗体分子以外の、感染を阻止できる他の物質についても、この試験を同様に適用  
15 することができる。

本発明のHCVウイルス粒子に対して產生される本発明の抗体には、ポリクローナル抗体およびモノクローナル抗体を包含する。ポリクローナル抗体が望ましい場合、まず、選択された哺乳類（例えば、マウス、ウサギ、ヤギ、ヒツジ、ウマなど）を、本発明のHCV粒子で免疫感作する。感作動物由来の血清を採集し、  
20 既知の手法に従って処理する。HCVエピトープに対するポリクローナル抗体を含有する血清が他の抗原に対する抗体を含有する場合には、このポリクローナル抗体をイムノアフィニティークロマトグラフィーにより精製すればよい。ポリクローナル抗血清を產生させる方法およびそれを処理する方法は当該分野で既知である。ポリクローナル抗体は、既にHCVに感染した哺乳類から単離してもよい。

HCVエピトープに対するモノクローナル抗体もまた、当業者により容易に製造され得る。モノクローナル抗体を產生するハイブリドーマを製造する一般的な方法は、周知である。例えば、Current Protocols in Immunology (John Wiley & Sons, Inc.)に記載された方法を用いることができる。

モノクローナル抗体產生細胞株は、細胞融合により生成してもよく、また、腫

癌遺伝子DNAによるBリンパ球の直接形質転換またはEpstein-Barrウイルスでの形質移入のような他の方法によっても生成してもよい。

これらの方法によって得られたモノクローナル抗体や、ポリクローナル抗体は、HCVの診断や治療、予防に有用である。

5 本発明のHCV粒子を用いて作製された抗体は、医薬上許容される、溶解剤、添加剤、安定化剤、バッファーなどとともに投与される。投与経路は、いずれの投与経路でも良いが、好ましくは、皮下、皮内、筋肉内投与であり、より好ましくは、静脈内投与が好ましい。

10 本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞又は全長HCVゲノムRNA複製細胞において産生されたHCV粒子とHCV感受性細胞とを、HCVの細胞への結合を促進又は抑制する物質をスクリーニングするための試験系として使用することもできる。具体的には例えば、被験物質の存在下で、本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞において産生されたHCV粒子とともにHCV感受性細胞を培養し、得られる培養物中の全長HCVレプリコンRNA又はウイルス粒子を検出し、その被験物質がレプリコン15 RNAの複製又はウイルス粒子の形成を促進又は抑制するかどうかを判定することにより、C型肝炎ウイルスの増殖を促進又は抑制する物質をスクリーニングすることができる。

20 このような全長HCVレプリコンRNA若しくは全長HCVゲノムRNA又はウイルス粒子の検出は、上述の手法又は後述の実施例に従って行うことができる。上記試験系は、C型肝炎ウイルス感染の予防剤、治療剤若しくは診断剤の製造又は評価のためにも使用することができる。

具体的には、本発明の上記試験系の利用例としては以下が挙げられる。

(1) HCVの増殖及び感染を抑制する物質の探索

25 HCVの増殖及び感染を抑制する物質としては、例えば、直接的若しくは間接的にHCVの増殖及び感染に影響を及ぼす有機化合物、あるいはHCVゲノム若しくはその相補鎖の標的配列にハイブリダイズすることによりHCVの増殖若しくはHCVタンパク質の翻訳に直接的又は間接的に影響を及ぼすアンチセンスオリゴヌクレオチド等が挙げられる。

(2) 細胞培養中で抗ウイルス作用を有する各種物質の評価

前記各種物質としては、合理的ドラッグデザイン又はハイスループットスクリーニングを用いて得られた物質（例えば単離精製された酵素）等が挙げられる。

(3) HCVに感染した患者の治療のための、新規攻撃標的の同定

例えばHCVウイルス増殖のために重要な役割を果たす宿主細胞性タンパク質を同定するために、本発明に係る全長HCVレプリコンRNA複製細胞又は全長HCVゲノムRNA複製細胞を使用することができる。

(4) HCVウイルスの薬剤等に対する耐性獲得能の評価及び該耐性に関わる変異の同定

(5) C型肝炎ウイルス感染の診断薬又は治療薬の開発、製造及び評価のために使用可能な抗原としてのウイルスタンパク質の製造

(6) C型肝炎ウイルス感染のワクチンの開発、製造及び評価のために使用可能な抗原としてのウイルスタンパク質及び弱毒化HCVの製造

(7) C型肝炎ウイルス感染の診断又は治療用のポリクローナル抗体もしくはモノクローナル抗体及びポリクローナル抗体の製造。

本発明を、以下の実施例及び図面に基づいてさらに具体的に説明する。但し本発明の技術的範囲はこれら実施例に限定されるものではない。

[実施例 1] 全長HCVゲノムRNA由来の全長HCVレプリコンRNAの作製

(A) 発現ベクターの構築

劇症肝炎の患者から分離したC型肝炎ウイルスであるJFH-1株（遺伝子型2a）のゲノム全長cDNAを含むDNA（JFH-1クローン）を、pUC19プラスミド中でT7 RNAプロモーター配列の下流に挿入したプラスミドDNAを作製した。

具体的には、JFH-1株のウイルスRNAを増幅したRT-PCR断片をpGEM-T EASY vector (Promega)にクローニングしてpGEM1-258、pGEM44-486、pGEM317-849、pGEM617-1323、pGEM1141-2367、pGEM2285-3509、pGEM3471-4665、pGEM4547-5970、pGEM5883-7003、pGEM6950-8035、pGEM7984-8892、pGEM8680-9283、pGEM9231-9634及びpGEM9594-9678の各プラスミドDNAを得た（非特許文献6を参照）。各プラスミドに含まれるウイルスゲノムRNA由来のcDNAをPCR法および制限酵素を用いてつなぎ合わせて、全長のウイルスゲノムcDNAをクローニングした。全長のウイ

ルスゲノムの上流にT7R RNAプロモーター配列を挿入した。このようにして構築されたプラスミドDNAを、以下、pJFH1と称する（図1上段）。なお、上記JFH-1クローンの作製については、特許文献1及び非特許文献3に記載されている。またJFH-1クローンの全長cDNAの塩基配列は、国際DNAデータバンク（DDBJ/EMBL/GenBank）のアクセション番号：AB047639に登録されている。  
5

次に、プラスミドDNAであるpJFH1の5'非翻訳領域とcore領域の間に、EMCV-IRES（脳心筋炎ウイルスの内部リボゾーム結合部位）及びネオマイシン耐性遺伝子（neo；ネオマイシンホスホトランスクフェラーゼ遺伝子とも称する）を挿入して、プラスミドDNAであるpFGREP-JFH1を構築した（図1の下段）。この構築手順は、既報（非特許文献4）に従った。また、pJFH1及びpFGREP-JFH1中のNS5B領域について、該領域にコードされるRNAポリメラーゼの活性中心に相当するアミノ酸モチーフGDDをGNDに変異させる突然変異を導入して、突然変異プラスミドクローンpJFH1/GND、及びpFGREP-JFH1/GNDも作製した。突然変異クローンpJFH1/GND及びpFGREP-JFH1/GNDは、それにコードされるNS5Bタンパク質の活性部位のアミノ酸配列が変異しているため、レプリコンRNAを複製するのに必要な活性NS5Bタンパク質を発現することができない。  
10  
15

さらに、レポーター遺伝子導入発現ベクターとして、pFGREP-JFH1の415から420番のMluIサイトと2075から2082番のPmeIサイトの間にルシフェラーゼ遺伝子を導入し、pFGREP-JFH1のネオマイシン耐性遺伝子をルシフェラーゼ遺伝子に置換したpFGREP-JFH1/Lucを作製した。また、pFGREP-JFH1/Lucの10933番をGからAに変異させ、NS5bのRNAポリメラーゼの活性中心のGDDモチーフをGNDに変えた変異体pFGREP-JFH1/Luc/GNDを作製した。  
20

pFGREP-JFH1の415から420番のMluIサイトと1142から1149番のPmeIサイトの間に緑色蛍光タンパク質遺伝子を導入し、pFGREP-JFH1のネオマイシン耐性遺伝子を緑色蛍光タンパク質遺伝子に置換したpFGREP-JFH1/EGFPを作製した。さらに、pFGREP-JFH1/EGFPの10000番をGからAに変異させ、NS5bのRNAポリメラーゼの活性中心のGDDモチーフをGNDに変えた変異体pFGREP-JFH1/EGFP/GNDを作製した。  
25

pFGREP-JFH1の415から420番のMluIサイトと1982から1989番のPmeIサイトの間に分泌型胎盤アルカリ性フォスファターゼ遺伝子を導入し、pFGREP-JFH1のネオ

マイシン耐性遺伝子を分泌型胎盤アルカリ性フォスファターゼ遺伝子に置換したpFGREP-JFH1/SEAPを作製した。また、pFGREP-JFH1/SEAPの10840番をGからAに変異させ、NS5bのRNAポリメラーゼの活性中心のGDDモチーフをGNDに変えた変異体pFGREP-JFH1/SEAP/GNDを作製した。

5

#### (B) 全長HCVゲノムRNAと全長HCVレプリコンRNAの作製

全長HCVゲノムRNA合成及び全長HCVレプリコンRNA合成に用いる鑄型DNAを作製するために、上記のとおり構築した発現ベクターpJFH1、pJFH1/GND、pFGREP-JFH1、pFGREP-JFH1/GNDを、それぞれ制限酵素XbaIで切斷した。次いで、これらのXbaI切斷断片のそれについて、10～20 μgを50 μlの反応液中に含有させ、Mung Bean Nuclease 20 Uを用いて30°Cで30分間インキュベートすることにより、さらに処理した。Mung Bean Nucleaseは、二本鎖DNA中的一本鎖部分を選択的に分解する反応を触媒する酵素である。通常、上記XbaI切斷断片をそのまま鑄型として用いてRNA合成を行うと、XbaIの認識配列の一部であるCUGAの4塩基が3'末端に余分に付加されたレプリコンRNAが合成されてしまう。そこで本実施例では、XbaI切斷断片をMung Bean Nucleaseで処理することにより、XbaI切斷断片からCUGAの4塩基を除去した。この後、XbaI切斷断片を含むMung Bean Nuclease処理後の溶液について、通常法に従ったタンパク質除去処理により、CUGAの4塩基が除去されたXbaI切斷断片を精製して、これを鑄型DNAとした。

20 次に、この鑄型DNAから、T7 RNAポリメラーゼを用いてRNAをin vitro合成した。このRNA合成にはAmbion社のMEGAscriptを用いた。鑄型DNAを0.5～1.0マイクログラム含む反応液20 μlを製造業者の使用説明書に従って反応させた。

RNA合成終了後、反応溶液にDNase (2 U) を添加して37°Cで15分間反応させた後、さらに酸性フェノールによるRNA抽出を行って、鑄型DNAを除去した。このようにしてpJFH1、pJFH1/GND、pFGREP-JFH1、pFGREP-JFH1/GNDに由来する上述の鑄型DNAから合成したRNAを、それぞれrJFH1、rJFH1/GND、rFGREP-JFH1、rFGREP-JFH1/GNDと命名した。これらのRNAの塩基配列を、rJFH-1、rFGREP-JFH1については配列番号12及び13、rJFH1/GND、rFGREP-JFH1/GNDについては配列番号14及び15にそれぞれ示す。rJFH1は、JFH-1株の全長HCVゲノムと同じ配列構造を

もつ、本発明の全長HCVゲノムRNAの一例である。rFGREP-JFH1は、本発明における全長HCVレプリコンRNAの一例である。

続いて、上述の通り作製した発現ベクター pFGREP-JFH1/Luc、pFGREP-JFH1/Luc/GND、pFGREP-JFH1/EGFP、pFGREP-JFH1/EGFP/GND、pFGREP-JFH1/SEAP、  
5 pFGREP-JFH1/SEAP/GNDをそれぞれ鋳型として用いて、HCVレプリコンRNAである rFGR-JFH1/Luc（配列番号21）、rFGR-JFH1/Luc/GND（配列番号22）、rFGR-JFH1/EGFP（配列番号23）、rFGR-JFH1/EGFP/GND（配列番号24）、rFGR-JFH1/SEAP（配列番号25）、rFGR-JFH1/SEAP/GND（配列番号26）を上記と同様の方法で製造した。

10

#### [実施例2] 細胞内における全長HCVゲノムRNA複製細胞とウイルス粒子產生

##### (C) 細胞内における全長HCVゲノムRNAの複製とウイルス粒子の產生

上記の通り合成した全長HCVゲノムRNA（rJFH1、rJFH1/GND）のそれを、様々な量で、Huh7細胞から抽出したトータル細胞性RNAと混合して、RNA総量が 1  
15 0 μgとなるように調製した。次いでその混合RNAをエレクトロポレーション法により Huh7細胞に導入した。エレクトロポレーション処理を行ったHuh7細胞を培養ディッシュに播種し、12時間、24時間、48時間及び72時間培養した後に、細胞を回収して、細胞からRNAを抽出して、ノーザンプロットで解析した。ノーザンプロット解析は、Molecular Cloning, A laboratory Manual, 2<sup>nd</sup> edition,  
20 J. Sambrook, E.F. Fritsch, T. Maniatis著、Cold Spring Harbor Laboratory Press (1989) の記載に従って行った。具体的には、培養後の細胞から抽出した RNAを変性アガロース電気泳動に供し、泳動終了後にRNAをポジティブチャージナイロン膜に転写した。pJFH1から作製した<sup>32</sup>PラベルしたDNAまたはRNAプローブを、前記のとおり膜に転写したRNAに対しハイブリダイゼーションさせ、次いでその  
25 膜を洗浄し、それをフィルムに感光させることにより、JFH-1クローンの全長HCV ゲノムRNAに特異的なRNAバンドを検出した。

図2に示すように、rJFH1/GNDをトランスフェクションした場合、トランスフェクション4時間後において、導入したRNAバンドは弱いシグナルとして確認できたが、時間の経過とともにシグナルは減弱し、24時間後にはほとんどバンド

のシグナルが確認できなかった。一方、rJFH1をトランスフェクションした場合、トランスフェクションの4時間後～1.2時間後には、導入したRNAバンドのシグナルの強さはrJFH1/GNDを導入した場合と同様にいったん減弱したが、2.4時間以降にははっきりとしたRNAバンドのシグナルが確認できた。確認されたシグナルはHCVゲノムRNAに特異的であった。つまり導入した全長HCVゲノムRNAの一部が複製増殖したものと考えられた。RNA複製酵素であるNS5Bの活性モチーフを変異させたrJFH1/GNDでは複製はみられず、NS5Bの活性が全長HCVゲノムRNAの複製に重要であることが示された。一方、これまでに分離されたH77株（非特許文献7）、J6株（非特許文献8）や本発明者らが慢性肝炎から分離したJCH1株（非特許文献6）などのC型肝炎ウイルス株に由来する全長HCVゲノムRNAについても同様の実験をおこなったが、これらの株では全長HCVゲノムRNAの複製は全く確認できなかった。

#### (D) トランスフェクション細胞培養液中のHCVウイルス粒子の検出

上記に従ってエレクトロポレーション処理を行ったHuh7細胞を培養ディッシュに播種し、1.2時間、2.4時間、4.8時間、及び7.2時間培養した後、培養上清中のHCVコアタンパク質を測定した。測定はオーソHCV抗原IRMAテストによって行った（非特許文献9）。図3に示す通り、rJFH1をトランスフェクションして4.8時間後及び7.2時間後の培養上清中にコアタンパク質が検出された。このコアタンパク質がウイルス粒子として分泌されているかどうかを確認するため、rJFH1をトランスフェクションした7.2時間後の培養液をショ糖密度勾配により分画した。60%（重量/重量）ショ糖溶液（50mM Tris pH7.5/0.1M NaCl/1mM EDTAに溶解）2ml、50%ショ糖溶液1ml、40%ショ糖溶液1ml、30%ショ糖溶液1ml、20%ショ糖溶液1ml、10%ショ糖溶液1mlを遠心チューブに重層し、さらにその上にサンプルの培養上清を4ml重層した。これをベックマンローターS W41Tiで400,000RPM、4°C、16時間遠心した。遠心終了後遠心チューブの底から0.5mlずつ分画回収した。各分画の密度、HCVコア蛋白濃度、全長HCVゲノムRNA量を定量した。全長HCVゲノムRNAの定量的RT-PCRによる検出は、Takeuchi T, Katsume A, Tanaka T, Abe A, Inoue K, Tsukiyama-Kohara K, Kawaguchi R, Tanaka S,

Kohara M. Real-Time detection system for quantification of Hepatitis C virus genome. Gastroenterology 116: 636-642 (1999)に従い、全長HCVゲノムRNAの5'非翻訳領域のRNAを検出することによって行った。具体的には、細胞から抽出したRNAに含まれる全長HCVゲノムRNAを、合成プライマー、R6-130-S17: 5' 5' -CGGGAGAGCCATAGTGG-3' (配列番号16)、R6-290-R19: 5' -AGTACCACAAGGCCTTCG-3' (配列番号17)、TaqMan Probe: R6-148-S21FT, 5' -CTGCGGAACCGGTGAGTACAC-3' (配列番号18)とEZ rTth RNA PCR kitを用いてPCR増幅し、次いでABI Prism 7700 sequence detector systemにより検出した。

図4に示すように11番のフラクションでコアタンパク質と全長HCVゲノムRNAのピークが一致した。このフラクションの密度は約1.18mg/mlであり、これまで報告されているコアタンパク質と核酸の結合物よりも軽い比重であった。さらに培養上清を0.25% NP40で処理した後に同様の分画を行うと、コアタンパク質と全長HCVゲノムRNAのピークは比重約1.28mg/mlへとシフトした。つまり、NP40処理により、脂質を含む比重の軽い表面膜がウイルス粒子から剥離して、核酸とコアタンパク質のみのコア粒子となった結果、比重が重くなったと考えられた。以上の結果から、rJFH1をHuh7細胞へトランスフェクションすることにより細胞内で全長HCVゲノムRNAが複製されたこと、さらにウイルス粒子が形成され、培養上清中に分泌されたことが明らかになった。

### 20 [実施例3]

#### (E) 全長HCVレプリコンRNA複製細胞の作製及び細胞クローンの樹立

実施例1で作製したrFGREP-JFH1及びrFGREP-JFH1/GNDを、実施例2と同様にしてHuh7細胞へトランスフェクションして全長HCVレプリコンRNA複製細胞の作製を行い、さらに全長HCVレプリコンRNA複製細胞クローンの樹立を試みた。

25 まず、rFGREP-JFH1及びrFGREP-JFH1/GNDのそれぞれをHuh7細胞へトランスフェクションした後、培養ディッシュにその細胞を播種した。16時間から24時間培養した後にG418を様々な濃度で添加した。週に2回培養液を交換しながら培養を継続した。21日間培養した後、クリスタルバイオレットで生存細胞を染色した。染色されるコロニー数を計測し、トランスフェクションしたRNA重量あたり

に得られたコロニー数を計算した。また、一部の培養ディッシュでは生存細胞のコロニーをクローン化して培養を継続した。クローン化された細胞からRNA、ゲノムDNA、タンパク質をそれぞれ抽出した後、全長HCVレプリコンRNAの検出、ネオマイシン耐性遺伝子のゲノムDNAへの組み込みの有無、HCVタンパク質の発現を5 検討した。これらの結果の詳細は下記に示す。

#### (F) コロニー形成能

上記のトランスフェクションの結果、トランスフェクションしたレプリコンRNA 1  $\mu$ g当たりのコロニー形成能は、rFGREP-JFH1をトランスフェクションした Huh7細胞では、G418濃度が1.0 mg/mlの場合、368 CFU (Colony Forming Unit; コロニー形成単位)/ $\mu$ g・RNAであった（図5の左側）。これに対して、rFGREP-JFH1/GNDをトランスフェクションしたHuh7細胞では、コロニー形成が認められなかった（図5の右側）。このことは、rFGREP-JFH1レプリコンRNAをトランスフェクションしたHuh7細胞のコロニー形成能は、rFGREP-JFH1から発現されるNS5B 15 (RNAポリメラーゼ) の活性に依存することを示した。つまり、コロニーを形成した細胞では、rFGREP-JFH1から発現されるNS5BのはたらきによりrFGREP-JFH1 レプリコンRNAが自律複製することによって、ネオマイシン耐性遺伝子が持続的に発現されG418耐性が維持される結果、細胞増殖が可能になったものと考えられた。

#### 20 (G) 樹立した細胞クローンにおける全長HCVレプリコンRNAの検出

上記(E)に従ってrFGREP-JFH1のHuh7細胞へのトランスフェクションにより樹立した全長HCVレプリコンRNA複製細胞クローンから、酸性フェノール抽出法によりトータルRNAを抽出した。次いでこのトータルRNAをノーザンプロット法により解析した。プローブとしてはpFGREP-JFH1特異的プローブを用いた。対照としては、トランスフェクションを行っていないHuh7細胞から同様に抽出したトータル RNA（図6中、「Huh7」として示す）、Huh7細胞から抽出したトータルRNAに試験管内で合成したレプリコンRNAを10の7乗コピー加えたサンプル（図6中、「10<sup>7</sup>」として示す）、及びHuh7細胞から抽出したトータルRNAに試験管内で合成したレプリコンRNAを10の8乗コピー加えたサンプル（図6中、「10<sup>8</sup>」として示す）。

す) を用いた。図 6 中、1～4 は細胞クローンの番号である。

この結果、rFGREP-JFH1と同程度の大きさのRNAがpFGREP-JFH1特異的プローブにより検出された(図 6)。これにより、トランスフェクションしたrFGREP-JFH1レプリコンRNAが細胞クローン内で複製増殖していることが確認された。また細胞クローン間で、レプリコンRNAの量に差があることが示された。図 6 中、例えば、クローン 2 はレプリコンRNAの量が他のクローンに比べて少なかった。

#### (H) ネオマイシン耐性遺伝子のゲノムDNAへの組み込みの有無の確認

(E)に従って得られた細胞クローン 1～8(図 7 中ではFGR-JFH1/2-1～FGR-JFH1/2-8と表記)について、その細胞クローンのG418に対する耐性がネオマイシン耐性遺伝子の宿主細胞ゲノムへの組み込みによるものでないことを確認するために、ネオマイシン耐性遺伝子特異的プライマー(センスプライマー、NEO-S3: 5'-AACAGATGGATTGCACGCA-3'(配列番号 19), アンチセンスプライマー、NEO-R: 5'-CGTCAAGAAGGCGATAGAAG-3'(配列番号 20))を用いて、細胞クローンから抽出した宿主細胞のゲノムDNAを鋳型とするPCR増幅を行った。この結果、図 7 に示すとおり、ネオマイシン耐性遺伝子の増幅が示された陽性クローンは認められなかった。

この(H)の結果から、本発明の全長HCVレプリコンRNAをトランスフェクションし樹立した細胞クローンでは、全長HCVレプリコンRNAが複製されていることが確認された。

#### (I) HCVタンパク質の検出

rFGREP-JFH1をトランスフェクションし樹立した細胞クローンから常法によりタンパク質を抽出して、SDS-PAGE及びウェスタンプロット法による解析を行った。調べた細胞クローンは、上記(G)で用いたものと同じである。合成した全長HCVゲノムRNAをHuh7細胞に一過性にトランスフェクションして得られた細胞抽出液を陽性対照とした(図 8、図 9 及び図 10 中、JFH-1として示す)。HCVのサブジェノミックRNAレプリコン(SGR-JFH1)をトランスフェクションして得られたクローン細胞抽出液をcoreタンパク質の陰性対照として、及びNS3、NS5aタンパ

ク質の陽性対照として用いた（図8、図9及び図10中、SGR-JFH1として示す）。トランスフェクションしていないHuh7細胞抽出液は全ての陰性対照として用いた（図8、図9及び図10中、Huh7として示す）。それぞれの細胞クローニングし、抗core特異的抗体及び抗NS3特異的抗体（Dr. Moradpourより分与されたもの； Wolk B, et al, J. Virology. 2000; 74: 2293-2304）を用いて、全長HCVレプリコンRNAにコードされているcoreタンパク質及びNS3タンパク質を検出した。図8及び図9に示される通り、rFGREP-JFH1をトランスフェクションし樹立した細胞クローニング1～4では、それぞれのタンパク質について陽性対照と同じ大きさのタンパク質が検出された。トランスフェクションしていないHuh7細胞ではcoreタンパク質、及びNS3タンパク質も検出されなかつたため、細胞クローニング1～4では、トランスフェクションされた全長HCVレプリコンRNAが自律複製し、さらにcoreタンパク質やNS3タンパク質が発現されていることが確認された。

なお、C型肝炎患者の血清を抗体として用いることにより、上記でNS3タンパク質の発現が確認された各細胞クローニングについて、全長HCVレプリコンRNAからのNS5Aタンパク質の発現も同様に確認した（図10）。

以上の(H)及び(I)の結果から、全長HCVレプリコンRNAをトランスフェクションし樹立した細胞クローニングでは、全長HCVレプリコンRNAが複製され、さらにウイルスタンパク質が発現されていることが確認された。

20

#### (J) 全長HCVレプリコンRNA複製細胞におけるウイルス粒子産生

上記(E)に従ってrFGREP-JFH1をHuh7細胞へトランスフェクションし、樹立した全長HCVレプリコンRNA複製細胞クローニング2及び3(FGR-JFH1/2-3)の培養上清を回収して、上記(D)と同様の方法で、培養上清中のHCVウイルス粒子を測定した。この結果を図11に示す。図11中、網掛けの円は各フラクション(画分)の比重(g/ml)を示す。また黒塗りの円は、coreタンパク質の量(fmol/L)を示す。白抜きの円は、全長HCVレプリコンRNAの力価( $\times 0.1$ コピー/mL)を示す。

図11に示すように、比重が約1.18～1.20 mg/mlとなるフラクションで、coreタンパク質と全長HCVレプリコンRNAのピークは一致していた。またそれよりも軽

い分画にも小さなピークを認めた。以上の結果から、rFGREP-JFH11をトランスフェクションしたHuh7細胞中では、全長HCVレプリコンRNAが複製されたこと、及びウイルス粒子が形成されて培養上清中に分泌されたことが示された。

## 5 [実施例 4]

### (K) 培養上清中のウイルス粒子の感染実験

(H)で用いた細胞クローン1～8(FGR-JFH1/2-1、FGR-JFH1/2-2、FGR-JFH1/2-3、FGR-JFH1/2-4、FGR-JFH1/2-5、FGR-JFH1/2-6、FGR-JFH1/2-7、FGR-JFH1/2-8)のそれぞれの培養上清をHuh7細胞に添加して、培養上清中のウイルス粒子をHuh7細胞に感染させた。感染翌日に感染させたHuh7細胞の培養液にG418を0.3mg/ml添加し、さらに21日間培養した。培養終了後に細胞を固定し、クリスタルバイオレットで染色したところ、FGR-JFH1/2-3、FGR-JFH1/2-5、FGR-JFH1/2-6の培養上清を用いて感染させた細胞についてコロニー形成が観察された。

一方、対照に用いたサブジェノミックレプリコン細胞SGR-JFH1/4-1(非特許文献6記載)の培養上清を用いて感染させた細胞ではコロニー形成はみられなかった。図12に、FGR-JFH1/2-3とSGR-JFH1/4-1の培養上清4mlまたは8mlをHuh7細胞に添加し、21日間培養した後に染色した培養ディッシュの写真を示す。FGR-JFH1/2-3の培養上清4mlを添加した細胞を播種したディッシュには3コロニー、FGR-JFH1/2-3の培養上清8mlを添加した細胞を播種したディッシュには9コロニーの形成を確認した。しかし、SGR-JFH1/4-1の培養上清を添加した細胞を播種したディッシュではコロニー形成はみられなかった。

FGR-JFH1/2-3、FGR-JFH1/2-5の培養上清を用いてC型肝炎ウイルスに感染させ、形成されたコロニーを、次いでクローン化した。FGR-JFH1/2-3の培養上清を用いた培養ディッシュから、FGR-JFH1/C2-3-11、FGR-JFH1/C2-3-12、FGR-JFH1/C2-3-13の3クローンを樹立した。FGR-JFH1/C2-5の培養上清を用いた培養ディッシュから、FGR-JFH1/C2-5-11、FGR-JFH1/C2-5-12の2クローンを樹立した。

FGR-JFH1/C2-3-11、FGR-JFH1/C2-3-12、FGR-JFH1/C2-3-13、FGR-JFH1/C2-5-11、FGR-JFH1/C2-5-12の各細胞クローンの培養上清を用いて再度Huh7細胞を感染させると、FGR-JFH1/C2-3-12、FGR-JFH1/C2-5-12の培養上清を用いた培養ディッシュ

ではコロニーの形成が観察された。FGR-JFH1/C2-3-12の培養上清を用いて感染させた細胞から、さらにFGR-JFH1/C2-3-12-1, FGR-JFH1/C2-3-12-2の2クローンを樹立した。FGR-JFH1/C2-5-12の培養上清を用いて感染させた細胞から、さらにFGR-JFH1/C2-5-12-1、FGR-JFH1/C2-5-12-2の2クローンを樹立した。

5 以上の通り全長HCVレプリコンRNA複製細胞の培養上清を用いて感染させ、その感染細胞より樹立したこれらの細胞クローンから、RNA、タンパク質、ゲノムDNAを抽出した。ゲノムDNAを鋳型としたPCRでネオマイシン耐性遺伝子の組み込みの有無を検討したところ、いずれも陰性であった。また、RNAを鋳型とする定量的PCR法により、細胞内で複製している全長HCVレプリコンRNAを検出することができた。さらに培養上清中にcoreタンパク質を検出することができた。この結果は、  
10 本発明の全長HCVレプリコンRNA複製細胞から産生された全長HCVレプリコンRNAを含むウイルス粒子が、新たな細胞に感染することができる事を示している。

### 産業上の利用可能性

15 本発明の方法により、HCVウイルス粒子を細胞培養系で作製することができる。本発明のレプリコンRNAを用いれば、細胞培養系においてHCVの全長ゲノムRNAを含有するRNAを効率よく製造することができる。また本発明に係る全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAを導入した細胞を用いれば、全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAを複製し、本発明のHCVウイルス粒子を細胞培養系で持続的に產生させることができる。本発明の全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAを導入した細胞は、HCVの複製過程、ウイルス粒子形成過程、ウイルス粒子の細胞外放出過程に影響を及ぼす各種物質をスクリーニングするための試験系として利用することもできる。本発明の全長HCVレプリコンRNA及び全長HCVゲノムRNA並びにウイルス粒子は、外来遺伝子のウイルスベクターとしても有用である。  
20 本発明のウイルス粒子又はその一部分はまた、C型肝炎ウイルスに対するワクチン抗原としてワクチンに含有させることができる。さらに、本発明のウイルス粒子と他の細胞とと一緒に培養する系を、ウイルス粒子の細胞への感染に影響を及ぼす各種物質をスクリーニングするための試験系として利用することができる。本発明の全長HCVレプリコンRNA又は全長HCVゲノムRNAはまた、HCVの全長ゲ  
25

ノム配列を容易に複製することができる鋳型としても有用である。

本明細書で引用した全ての刊行物、特許及び特許出願の全体を参照として本明細書に組み入れるものとする。

## 5 配列表フリーテキスト

配列番号 1 の配列は、JFH-1 クローン由来の HCV ゲノム RNA の 5' 非翻訳領域を示す。

配列番号 2 の配列は、JFH-1 クローン由来の HCV ゲノム RNA の core タンパク質コード配列を示す。

配列番号 3 の配列は、JFH-1 クローン由来の HCV ゲノム RNA の E1 タンパク質コード配列を示す。

配列番号 4 の配列は、JFH-1 クローン由来の HCV ゲノム RNA の E2 タンパク質コード配列を示す。

配列番号 5 の配列は、JFH-1 クローン由来の HCV ゲノム RNA の NS2 タンパク質コード配列を示す。

配列番号 6 の配列は、JFH-1 クローン由来の HCV ゲノム RNA の NS3 タンパク質コード配列を示す。

配列番号 7 の配列は、JFH-1 クローン由来の HCV ゲノム RNA の NS4A タンパク質コード配列を示す。

配列番号 8 の配列は、JFH-1 クローン由来の HCV ゲノム RNA の NS4B タンパク質コード配列を示す。

配列番号 9 の配列は、JFH-1 クローン由来の HCV ゲノム RNA の NS5A タンパク質コード配列を示す。

配列番号 10 の配列は、JFH-1 クローン由来の HCV ゲノム RNA の NS5B タンパク質コード配列を示す。

配列番号 11 の配列は、JFH-1 クローン由来の HCV ゲノム RNA の 3' 非翻訳領域を示す。

配列番号 12 の配列は、JFH-1 クローン由来の全長 HCV ゲノム RNA を示す。

配列番号 13 の配列は、JFH-1 クローン由来の全長 HCV ゲノム RNA を含むレプリコン RNA を示す。

配列番号 1 4 の配列は、アミノ酸モチーフGDDをGNDに変異させた、JFH-1クローアン由来の全長HCVゲノムRNAを示す。

配列番号 1 5 の配列は、アミノ酸モチーフGDDをGNDに変異させた、JFH-1クローアン由来の全長HCVゲノムRNAを含むレプリコンRNAを示す。

5 配列番号 1 6 ~ 2 0 の配列は、プライマーを示す。

配列願号 2 1 の配列は、発現ベクターpFGREP-JFH1/Luc由来のレプリコンRNAを示す。

配列願号 2 2 の配列は、発現ベクターpFGREP-JFH1/Luc/GND由来のレプリコンRNAを示す。

10 配列願号 2 3 の配列は、発現ベクターpFGREP-JFH1/EGFP由来のレプリコンRNAを示す。

配列願号 2 4 の配列は、発現ベクターpFGREP-JFH1/EGFP/GND由来のレプリコンRNAを示す。

配列願号 2 5 の配列は、発現ベクターpFGREP-JFH1/SEAP由来のレプリコンRNAを示す。

15 配列願号 2 6 の配列は、発現ベクターpFGREP-JFH1/SEAP/GND由来のレプリコンRNAを示す。

## 請求の範囲

1. 遺伝子型2aのC型肝炎ウイルスのゲノムRNAの、5'非翻訳領域、coreタンパク質コード配列、E1タンパク質コード配列、E2タンパク質コード配列、NS2タンパク質コード配列、NS3タンパク質コード配列、NS4Aタンパク質コード配列、NS4Bタンパク質コード配列、NS5Aタンパク質コード配列、NS5Bタンパク質コード配列、及び3'非翻訳領域と、少なくとも1つの選択マーカー遺伝子及び／又は少なくとも1つのリポーター遺伝子と、少なくとも1つのIRES配列と、を含む塩基配列からなる、レプリコンRNA。  
10 2. 前記塩基配列が、前記の5'非翻訳領域、少なくとも1つの選択マーカー遺伝子及び／又は少なくとも1つのリポーター遺伝子、少なくとも1つのIRES配列、coreタンパク質コード配列、E1タンパク質コード配列、E2タンパク質コード配列、NS2タンパク質コード配列、NS3タンパク質コード配列、NS4Aタンパク質コード配列、NS4Bタンパク質コード配列、NS5Aタンパク質コード配列、NS5Bタンパク質コード配列、及び3'非翻訳領域を、5'から3'方向へこの順番で含む、請求項1記載のレプリコンRNA。  
15 3. 遺伝子型2aのC型肝炎ウイルスのゲノムRNAが、配列番号1～2に示す塩基配列からなるRNAである、請求項1又は2記載のレプリコンRNA。  
4. 5'非翻訳領域が配列番号1に示す塩基配列からなり、coreタンパク質コード配列が配列番号2に示す塩基配列からなり、E1タンパク質コード配列が配列番号3に示す塩基配列からなり、E2タンパク質コード配列が配列番号4に示す塩基配列からなり、NS2タンパク質コード配列が配列番号5に示す塩基配列からなり、NS3タンパク質コード配列が配列番号6に示す塩基配列からなり、NS4Aタンパク質コード配列が配列番号7に示す塩基配列からなり、NS4Bタンパク質コード配列が配列番号8に示す塩基配列からなり、NS5Aタンパク質コード配列が配列番号9に示す塩基配列からなり、NS5Bタンパク質コード配列が配列番号10に示す塩基配列からなり、3'非翻訳領域が配列番号11に示す塩基配列からなる、請求項1～3のいずれか1項記載のレプリコンRNA。  
20 5. 以下の(a)又は(b)のRNAからなるレプリコンRNA。  
25

- (a) 配列番号 1 3 に示す塩基配列からなるRNA。
- (b) 配列番号 1 3 に示す塩基配列において 1 ~ 1 0 0 個の塩基が欠失、置換又は付加された塩基配列からなるRNAであって、自律複製能及びウイルス粒子產生能を有するRNA。

5 6. 請求項 1 ~ 5 のいずれか 1 項記載のレプリコンRNAを細胞に導入することを含む、該レプリコンRNAを複製しつつウイルス粒子を產生する細胞を製造する方法。

7. 細胞が増殖性細胞である、請求項 6 記載の方法。

8. 細胞が真核細胞である、請求項 6 又は 7 記載の方法。

10 9. 真核細胞がヒト肝由来細胞、ヒト子宮頸由来細胞、又はヒト胎児腎由来細胞である、請求項 8 記載の方法。

10. 真核細胞がHuh7細胞、HepG2細胞、IMY-N9細胞、HeLa細胞、又は293細胞である、請求項 8 記載の方法。

15 11. 請求項 6 ~ 1 0 のいずれか 1 項記載の方法により製造される、レプリコンRNAを複製しつつウイルス粒子を產生する細胞。

12. 請求項 1 1 記載の細胞を培養してウイルス粒子を產生させることを含む、C型肝炎ウイルス粒子の製造方法。

13. 請求項 1 2 記載の方法により製造される、C型肝炎ウイルス粒子。

20 14. 請求項 1 1 記載の細胞を培養し、培養物中のウイルス粒子を他の細胞に感染させることを含む、C型肝炎ウイルス感染細胞を製造する方法。

15. 請求項 1 4 記載の方法によって製造される、C型肝炎ウイルス感染細胞。

16. 被験物質の存在下で、下記(a) ~ (c) :

(a) 請求項 1 1 記載の細胞

25 (b) 請求項 1 5 記載のC型肝炎ウイルス感染細胞、並びに

(c) 請求項 1 3 記載のC型肝炎ウイルス粒子及びC型肝炎ウイルス感受性細胞、のうちの少なくとも 1 つを培養し、得られる培養物中のレプリコンRNA又はウイルス粒子を検出することを含む、抗C型肝炎ウイルス物質をスクリーニングする方法。

17. 請求項13記載のC型肝炎ウイルス粒子又はその一部分を含有する、C型肝炎ワクチン。

18. 請求項13記載のC型肝炎ウイルス粒子又はその一部分を抗原として使用して、C型肝炎ワクチンを製造する方法。

5 19. 請求項1～5のいずれか1項記載のレプリコンRNAを使用して、遺伝子治療のための肝細胞指向性ウイルスベクターを製造する方法。

20. 請求項18に記載の方法により製造される、肝細胞指向性ウイルスベクター。

10 21. 外来遺伝子をコードするRNAを請求項1～5のいずれか1項記載のレプリコンRNA中に挿入し、それを細胞中に導入することを含む、該細胞内で外来遺伝子を複製及び／又は発現させる方法。

22. 配列番号12に示す塩基配列からなるRNAを細胞に導入することを含む、該RNAを複製しあつウイルス粒子を產生する細胞を製造する方法。

15 23. 配列番号12に示す塩基配列からなるRNAを細胞に導入し、その細胞を培養してウイルス粒子を產生させることを含む、C型肝炎ウイルス粒子の製造方法。

24. 細胞が増殖性細胞である、請求項21又は22記載の方法。

25. 配列番号12に示す塩基配列からなるRNAに外来遺伝子をコードするRNAを挿入し、それを細胞に導入し、その細胞を培養してウイルス粒子を產生させることを含む、外来遺伝子を含有するウイルスベクターを製造する方法。

26. 請求項13記載のC型肝炎ウイルス粒子に対する抗体。

1

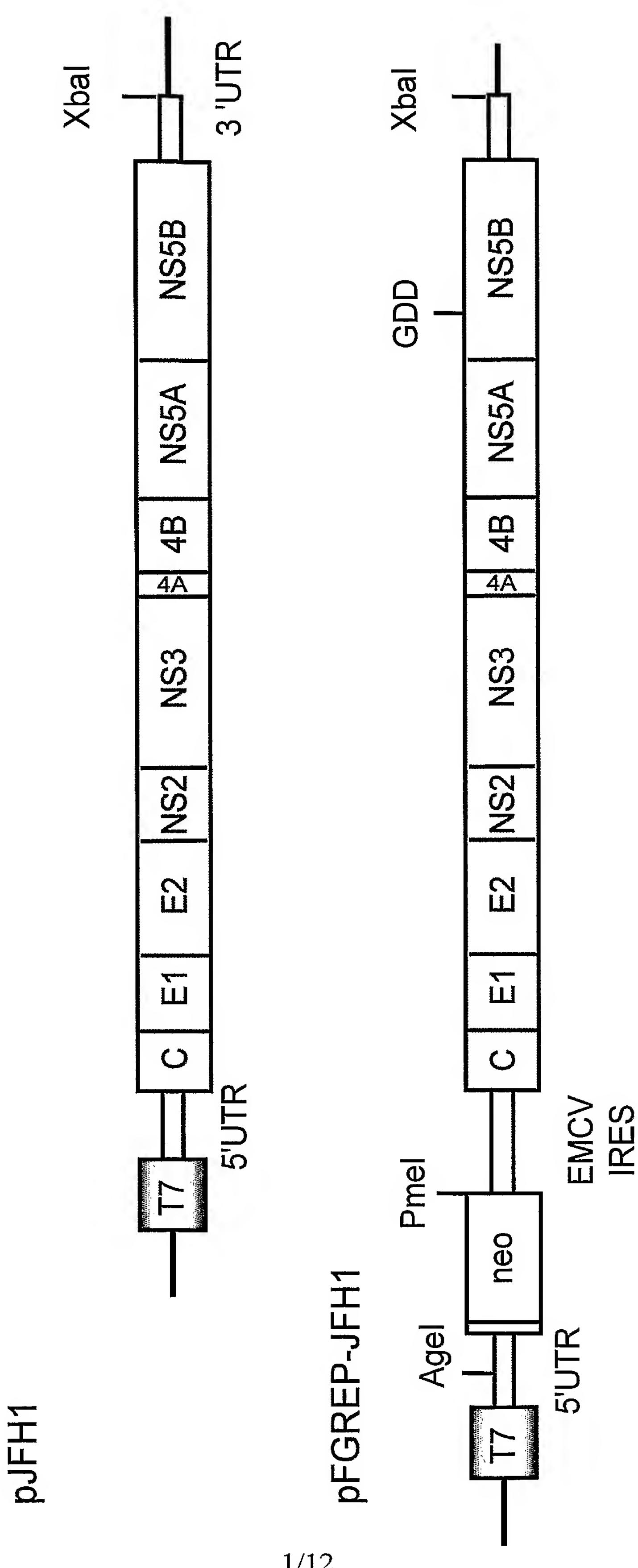


図 2

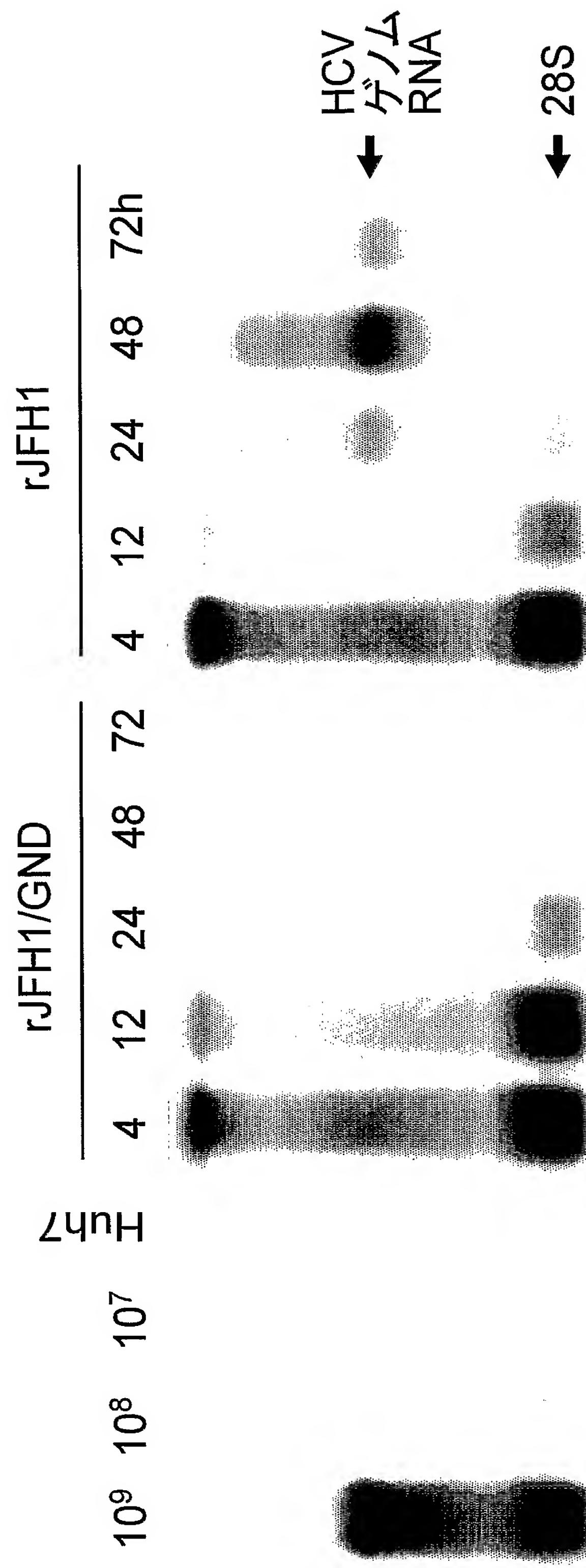


図 3

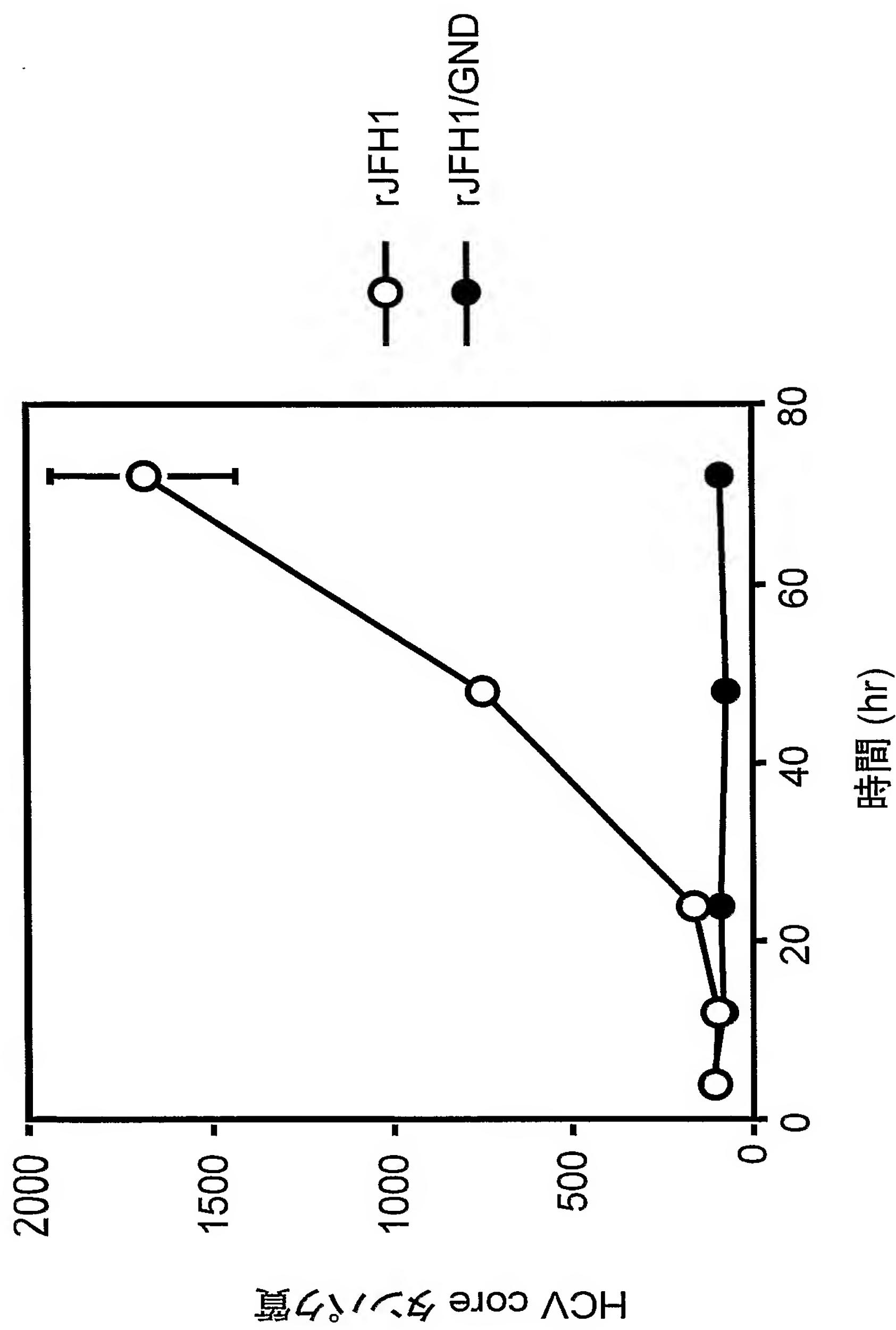


図 4

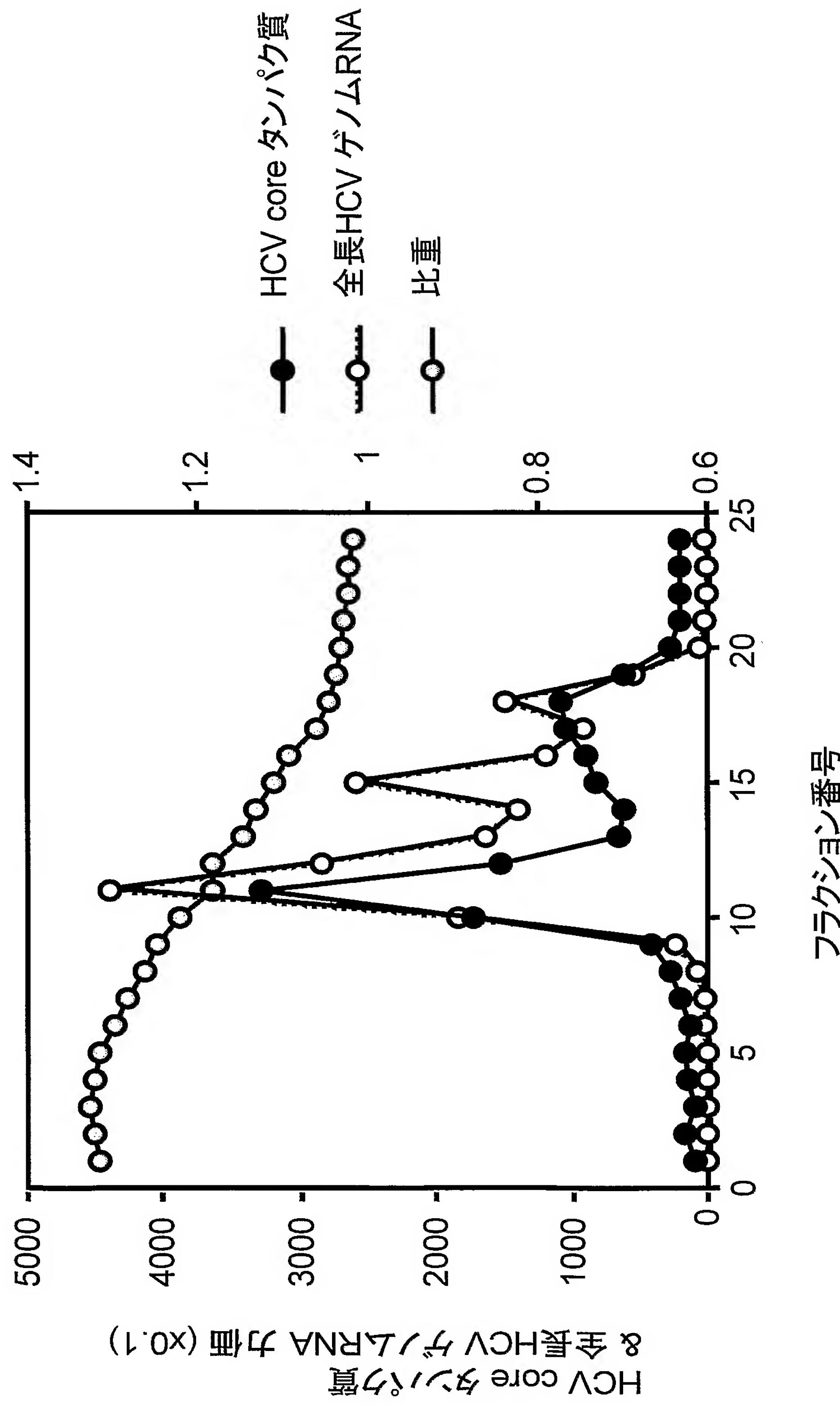
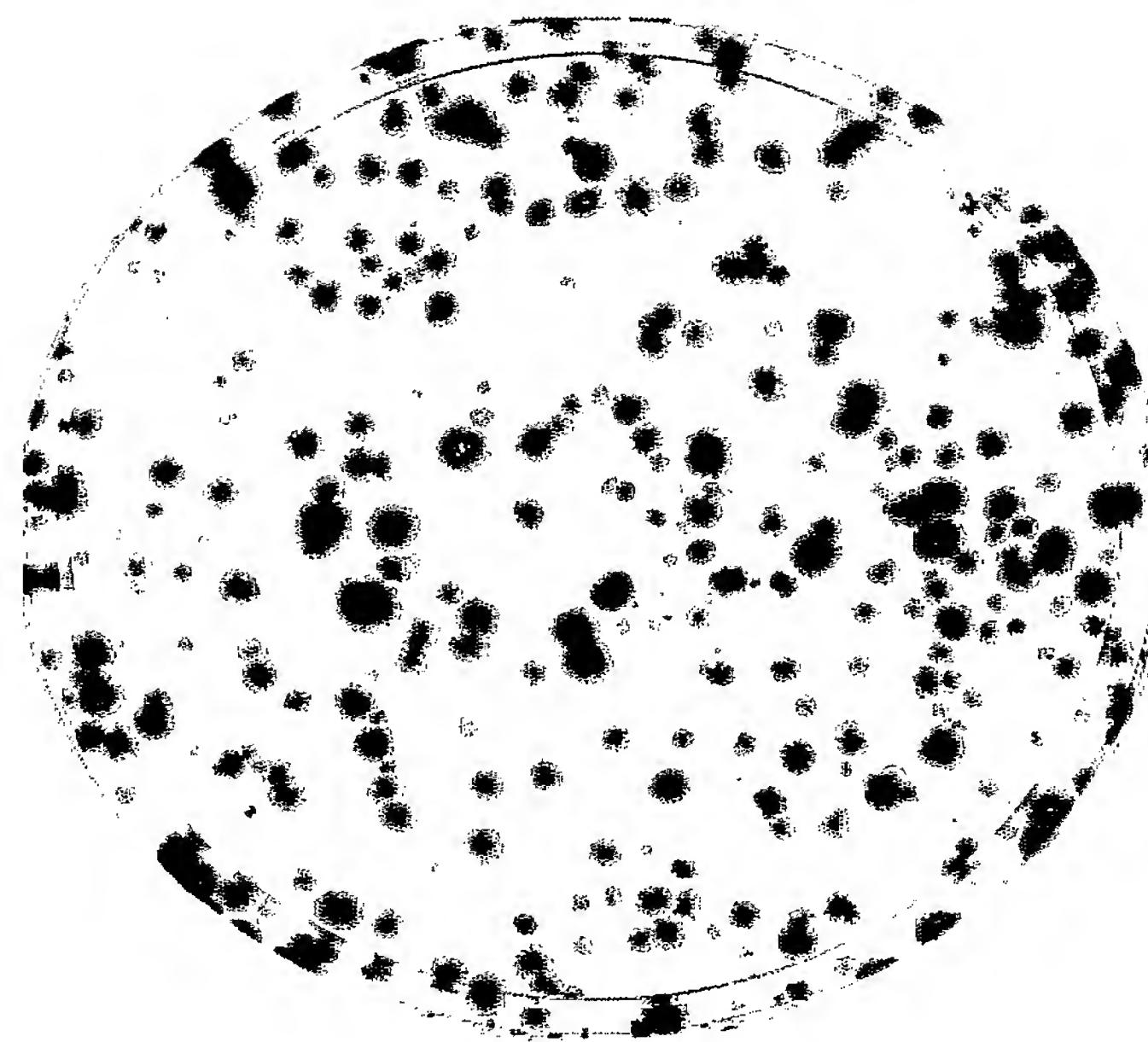
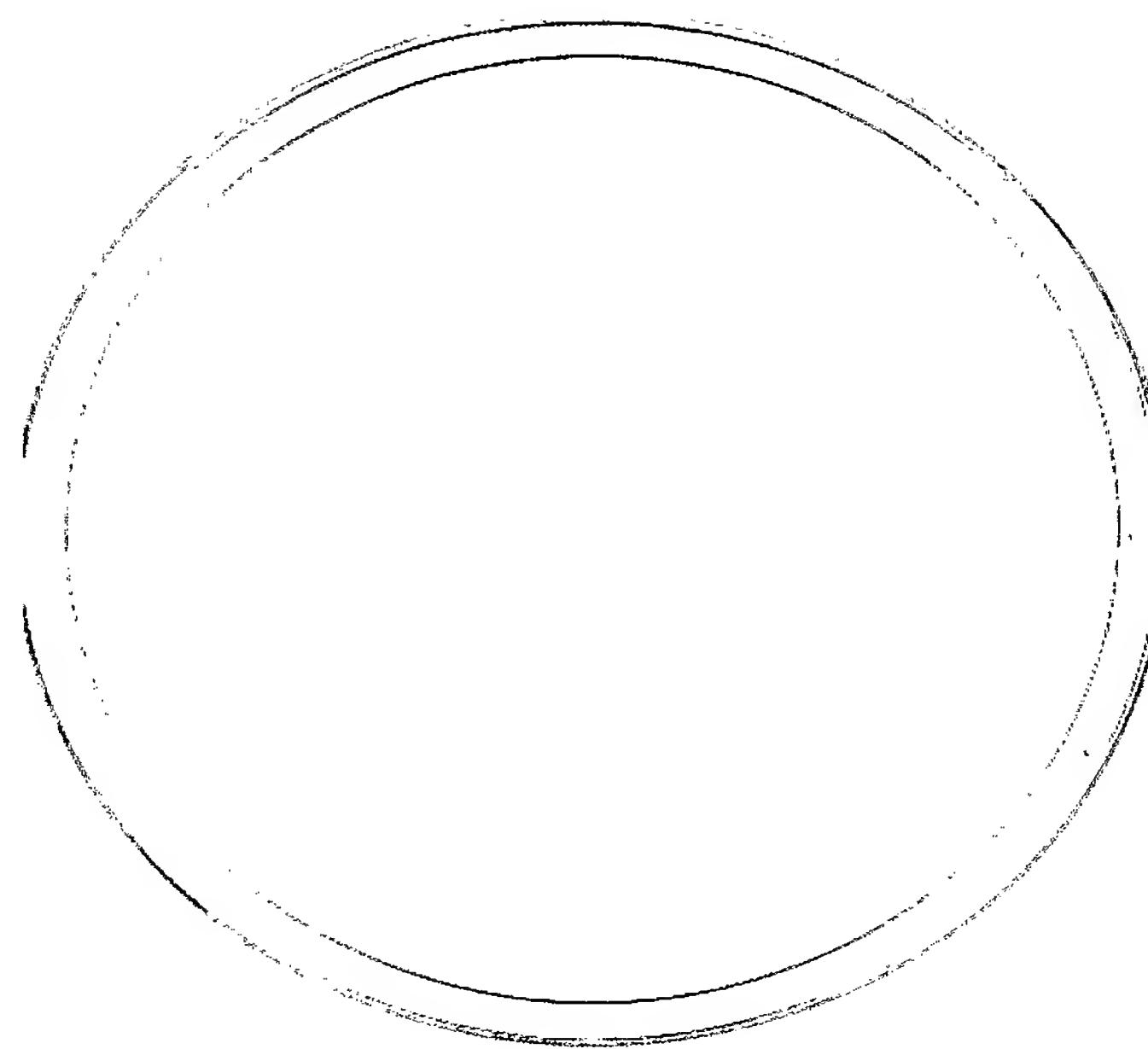


図 5



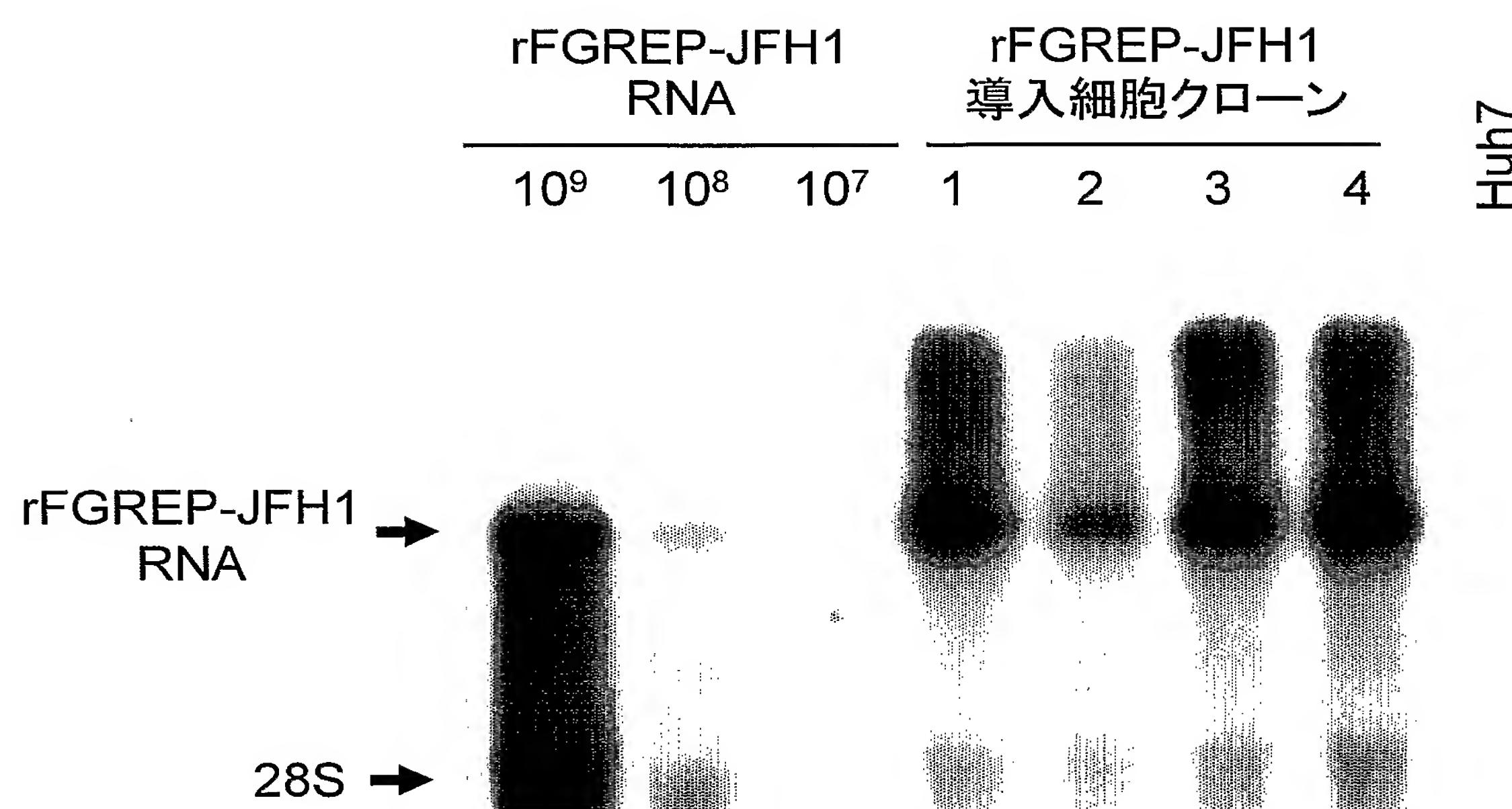
rFCREP-JFH1

1μg RNA トランスクエクション



rFCREP-JFH1/GND

図 6



## 図 7

rFGREP-JFH1導入細胞クローン

M P N 2-1 2-2 2-3 2-4 2-5 2-6 2-7 2-8



図 8

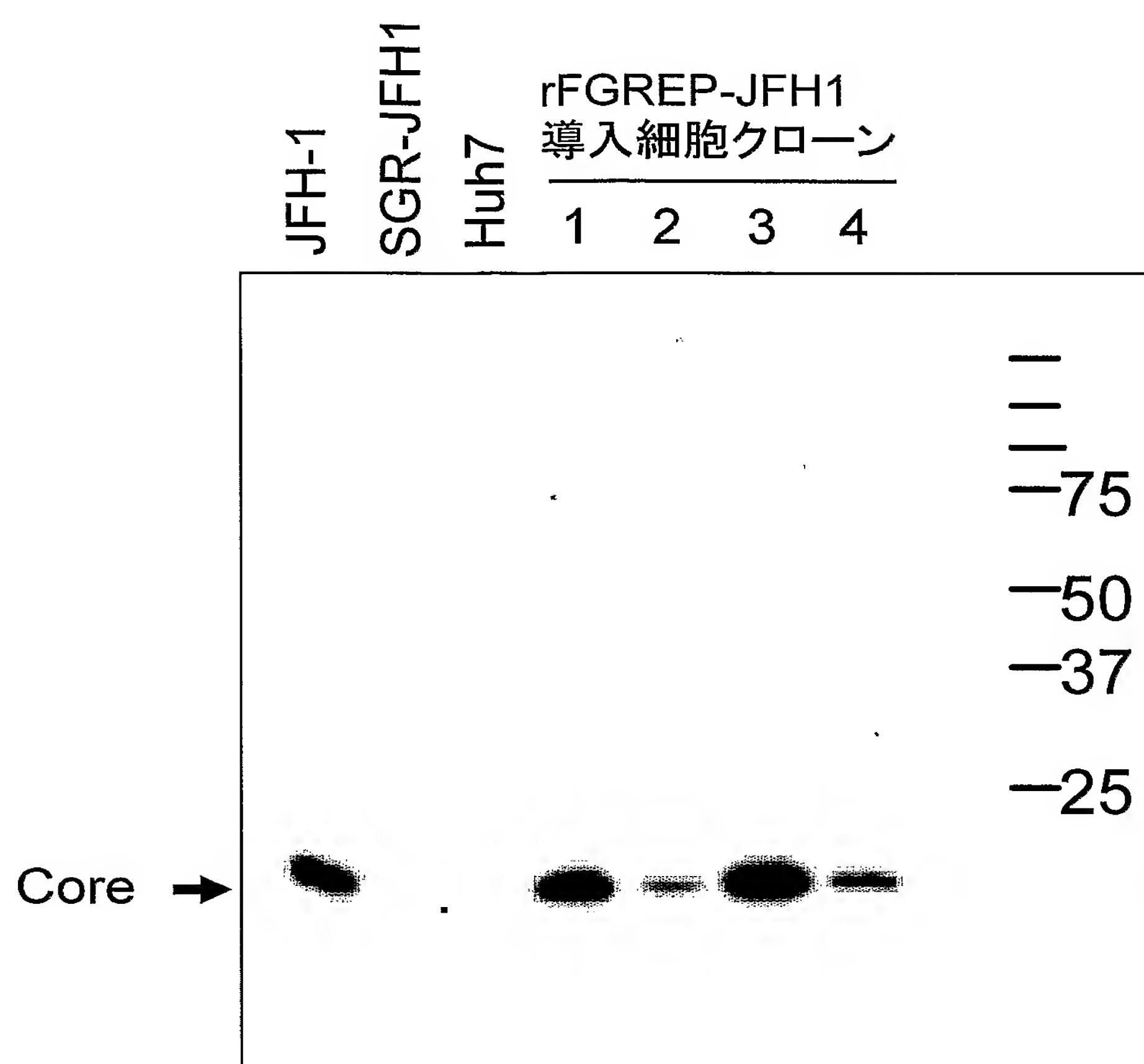
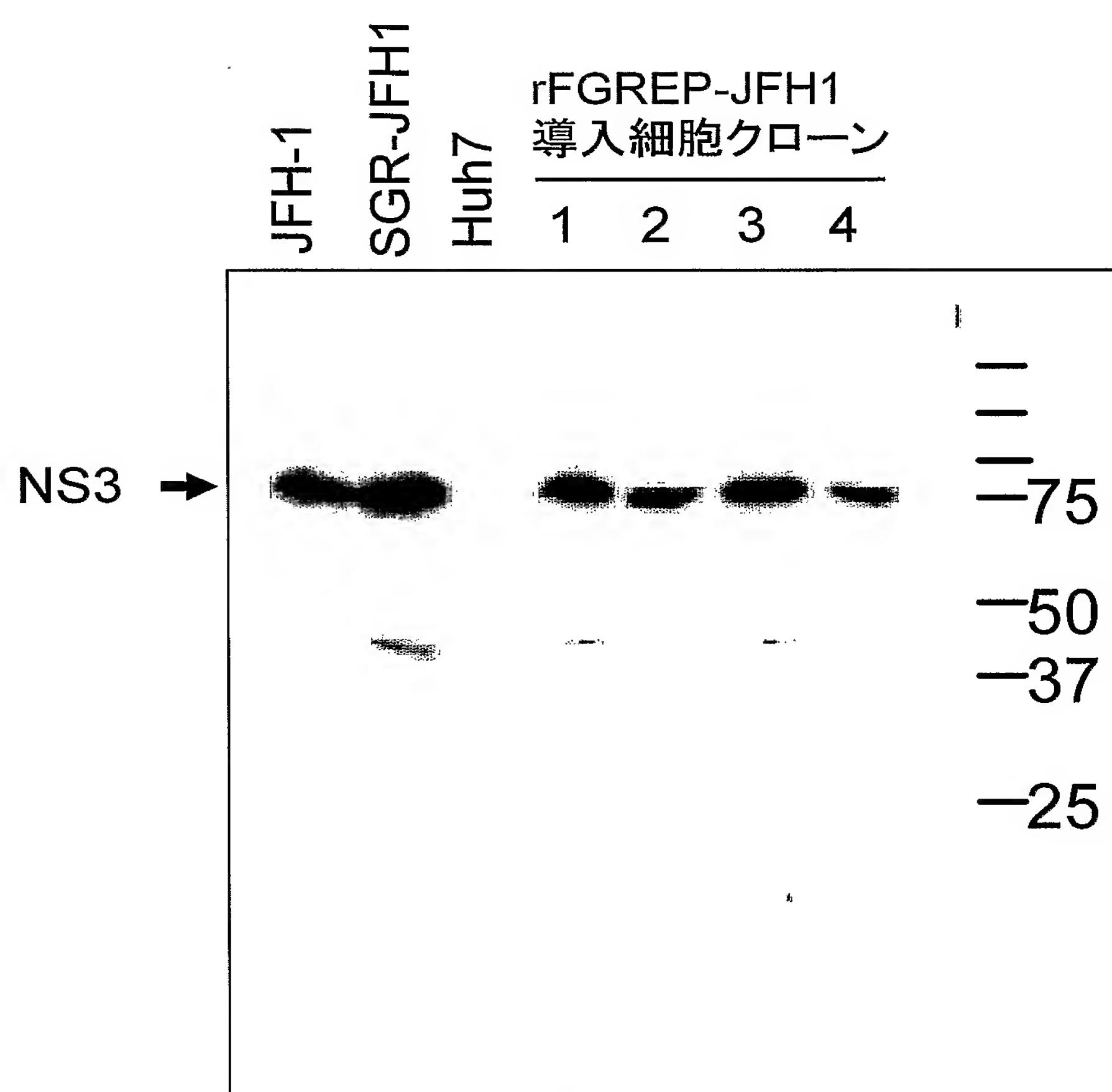
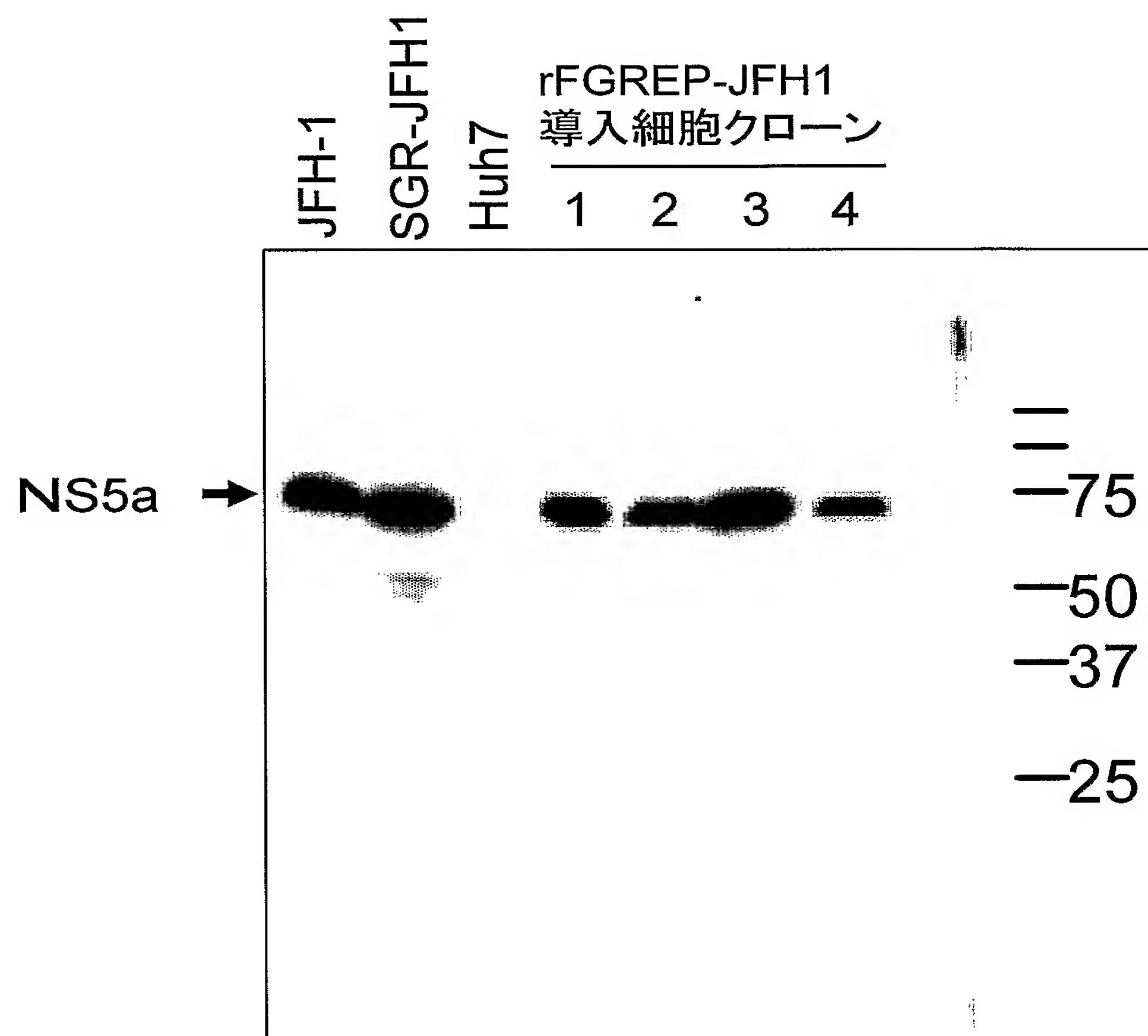


図 9



## 図 1 O



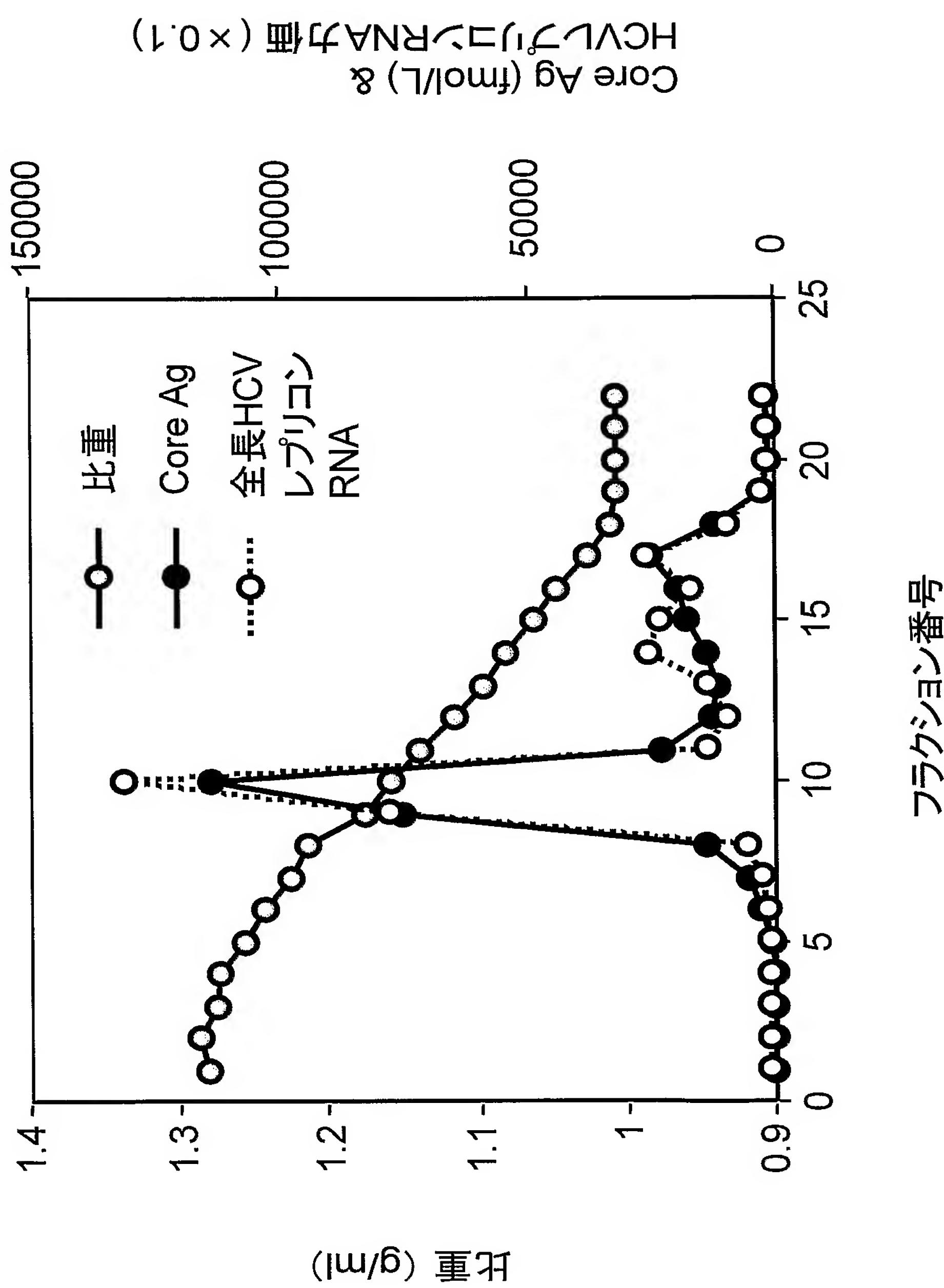
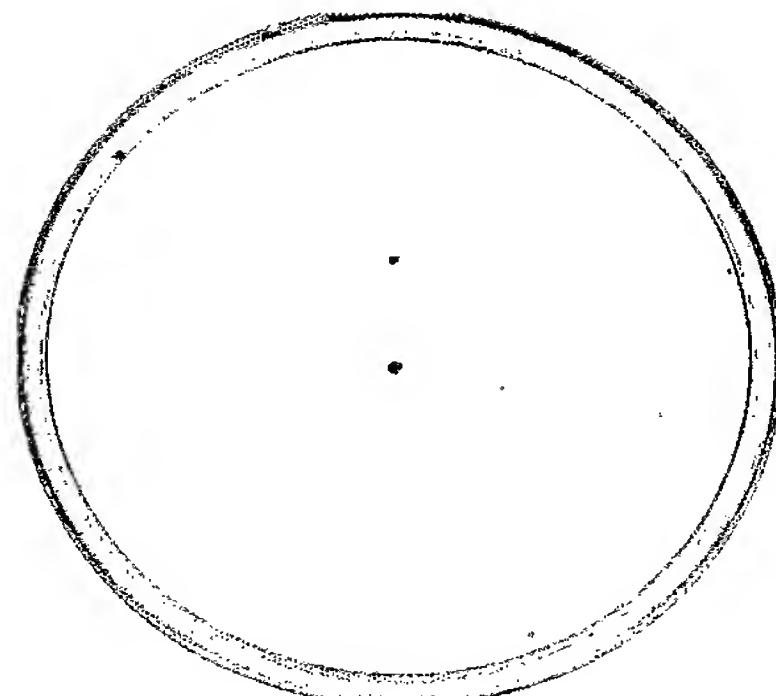
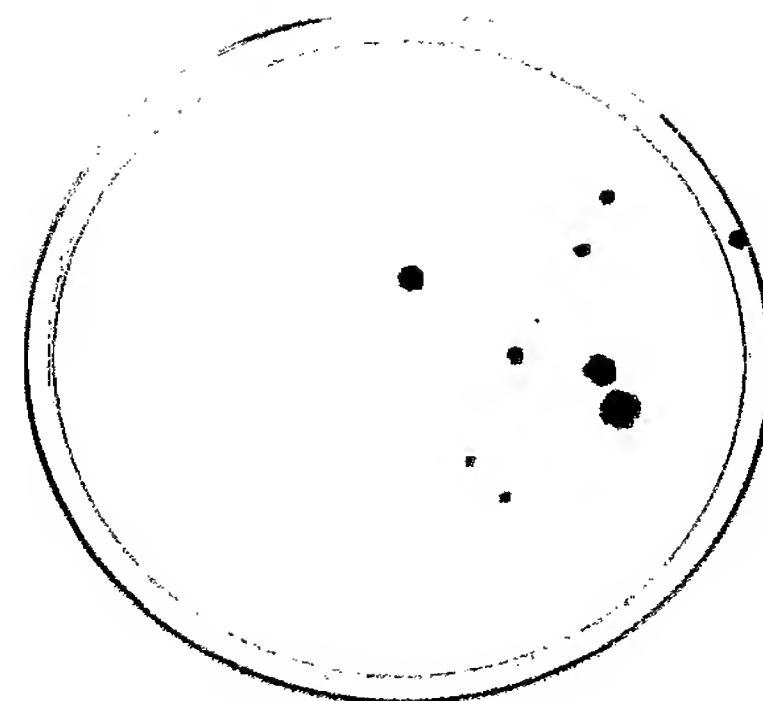


図 1 1

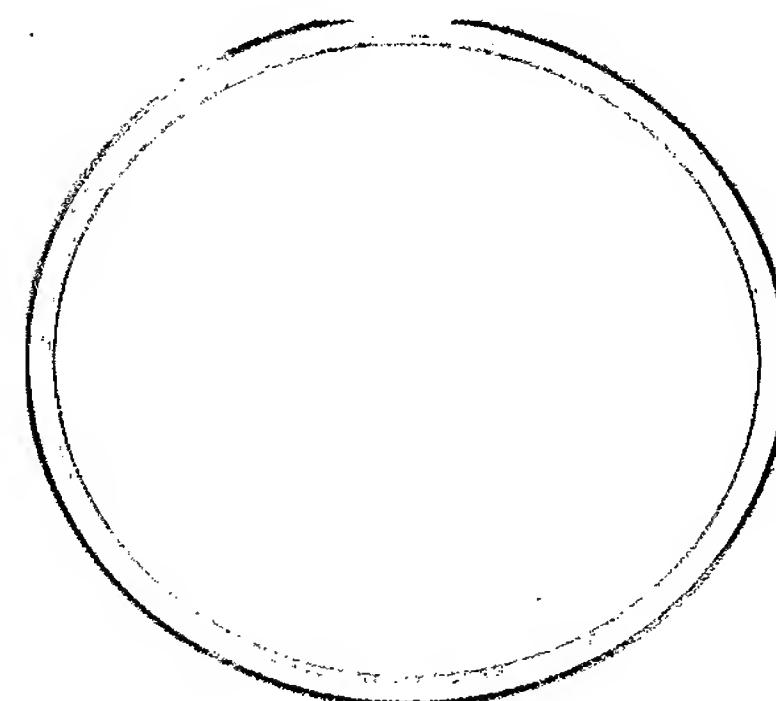
図 1 2



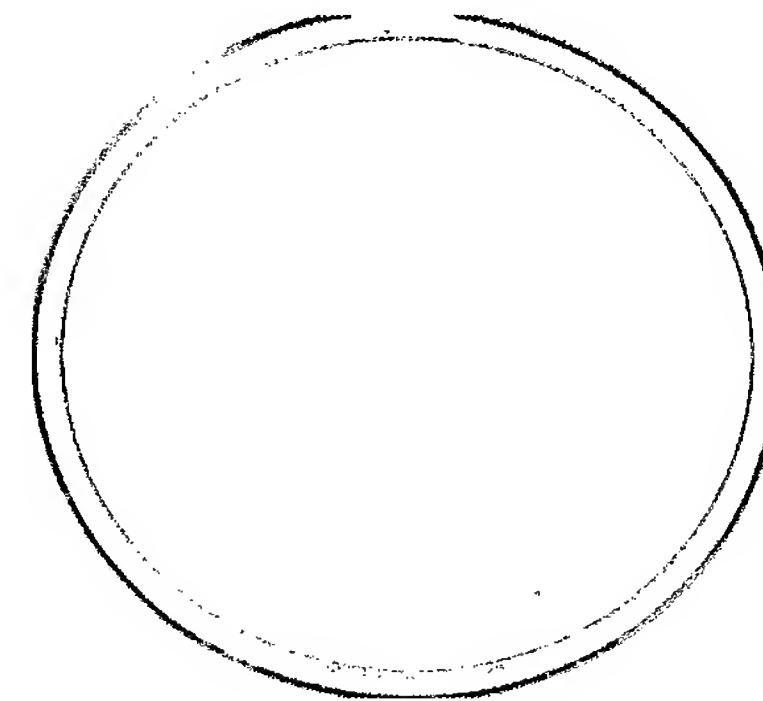
FGR-JFH1/2-3  
4ml



FGR-JFH1/2-3  
8ml



SGR-JFH1/4-1  
4ml



SGR-JFH1/4-1  
8ml

## SEQUENCE LISTING

<110> Tokyo Metropolitan Organization for Medical Research  
Toray Industries Inc.

<120> A nucleic acid construct comprising a full-length genome of human Hepatitis C virus, a recombinant cell transfected with the same replicating the full-length virus genome, and a process for producing human Hepatitis C virus particles

<130> PH-2372-PCT

<150> JP 2004-045489

<151> 2004-02-20

<160> 26

<170> PatentIn Ver. 2.1

<210> 1

<211> 340

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> 5' non-translated region of hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<220>

<223> inventor: Wakita, Takaji

Inventor: Kato, Takanobu

Inventor: Date, Tomoko

Inventor: Miyamoto, Michiko

Inventor: Tanabe, Junichi

Inventor: Sone, Saburo

<400> 1

accugccccu aauagggcg acacuccgccc augaaucacu cccugugag gaacuacugu 60  
cuucacgcag aaagcgccua gccauggcgu uaguaugagu gucguacagc cuccaggccc 120  
cccccucccg ggagagccau aguggucugc ggaaccggug aguacaccgg aauugccggg 180  
aagacugggu ccuuucuugg auaaacccac ucuaugcccg gccauuuggg cgugcccccg 240  
caagacugcu agccgaguag cguuggguug cgaaaggccu ugugguacug ccugauaggg 300  
cgcuugcgag ugccccggga ggucucguag accgugcacc 340

<210> 2

<211> 573

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> core protein-coding sequence of hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<400> 2

augagcacaa auccuaaacc ucaaagaaaa accaaaagaa acaccaaccg ucgcccagaa 60  
gacguuaagu ucccgggcgg cggccagauc guuggcggag uauacuuguu gccgcgcagg 120  
ggccccaggu ugugugugcgcg cacgacaagg aaaacuucgg agcggucca gccacguggg 180

agacgccagc ccau~~ccccaa~~ agaucggcgc uccacuggca aggccugggg aaaaccaggu 240  
cgccccuggc cccuaauaugg gaaugaggga cucggcuggg caggauggcu ccuguccccc 300  
cgagggcucuc gcccuccug gggcccccacu gaccccccggc auaggucgct caacgugggu 360  
aaagucaucg acacccuaac guguggcuuu gccgaccuca uggttacau ccccgucgua 420  
ggcgccccgc uuaguggcgc cgccagagcu gucgcgacg gcgugagagu ccuggaggac 480  
ggguuaauu augcaacagg gaaccuaccc gguuucccu uuucuaucuu cuugcuggcc 540  
cuguuguccu gcau~~caccgu~~ uccggucucu gcu 573

<210> 3

<211> 576

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> E1 protein-coding sequence of hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<400> 3

gcccagguga agaauaccag uagcagcuac auggugacca augacugcuc caaugacagc 60  
aucacuuggc agcucgaggc ugcgguuc cacgucccg ggugcguccc gugcgagaga 120  
guggggaaa cgucacggug uuggugcca gucucgccaa acauggcugu g~~gg~~gcagccc 180  
ggugccuca cgcaggguu gcggacgcac aucgauaugg uugugauguc cgccaccuuc 240  
ugcucugcuc ucuacguggg ggaccucugu ggcgggguga ugcucgcggc ccagguguuuc 300  
aucgucucgc cgcaguacca cugguuugug caagaaugca auugcuccau cuaccuggc 360  
accauacacug gacaccgcau ggcaugggac augaugauga acuggugcc cacggccacc 420  
augauccugg cguaccgugau gcgcguccc gaggucauca uagacaucgu uagcggggu 480  
cacuggggcg ucauguucgg cuuggccuac uucucuuug acggugcg ggcgaagguc 540  
auugucaucc uucuugcgugggu gacgcg 576

<210> 4

<211> 1290

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> E2 protein-coding sequence of hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<400> 4

ggcaccacca ccguuggagg cgcuguugca cguuccacca acgugauugc cggcguguuc 60  
agccauggcc cucagcagaa cauucagcuc auuaacacca acggcaguug gcacaucaac 120  
cguacugccu ugaauugcaa ugacuccuug aacaccggcu uucucgcggc cuuguucuac 180  
accaaccgcu uuaacucguc agggugucca gggcgccugu ccgcugccg caacaucgag 240  
gcuuuuccgga uagggugggg cacccuacag uacgaggaua augucaccaa uccagaggau 300  
augaggccgu acugcuggca cuacccccc aagccgugug gctguaguucc cgcgaggucu 360  
guguguggcc caguguacug uuucacccccc agcccgguag uagugggcac gaccgacaga 420  
cguggagugc ccaccuacac augggagag aaugagacag auguciuccu acugaacagc 480  
acccgaccgc cgcatggcuc augguucggc ugcacgugga ugaacuccac ugguuucacc 540  
aagacuugug ggcgcgccacc uugccgcacc agagcugacu ucaacgcccag cacggacuug 600  
uugugccua cggauuguuu uaggaagcau ccugaugcca cuuauauua gugugguucu 660  
gggcccuggc ucacaccaaa gugccugguc cacuacccuu acagacucug gcauuacccc 720  
ugcacaguca auuuuaccau cuucaagaua agaauguaug uagggggggu ugagcacagg 780  
cucacggccg caugcaacuu cacucguggg gaucgcugcg acuuggagga cagggacagg 840  
agucagcugu cuccucuguu gcacucuacc acgaauggg ccauccugcc cugcaccuac 900  
ucagacuuac ccgcuuuguc aacuggucuu cuccaccuuc accagaacau cguggacqua 960  
caauacaugu auggccucuc accugcuauc acaaaaauacg ucgguucgaug ggaguggug 1020

guacucuuau uccugcucuu agcggacgcc agagucugcg ccugcuugug gaugcuauc 1080  
uuguugggccc aggccgaagc agcauuggag aaguuggucg ucuugcacgc ugcgagugcg 1140  
gcuaacugcc auggccuccu auauuuugcc aucuucuucg uggcagcuug gcacaucagg 1200  
ggucgggugg ucccuugac caccuauugc cucacuggcc uauggccuu cugccuacug 1260  
cucauggcac ugccccggca ggcuuauugcc 1290

<210> 5

<211> 651

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> NS2 protein-coding sequence of hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<400> 5

uaugacgcac cugugcacgg acagauaggc guggguuugu ugauauugau cacccucuuc 60  
acacucaccc cggguauaa gaccuccuc ggccaguguc uguggugguu gugcuaucuc 120  
cugaccugg gggaggccau gauucaggag ugguaccac ccaugcaggu gcgcggcggc 180  
cgcauggca ucgcgugggc cguacauua uucugccgg gugugguguu ugacauuacc 240  
aaauggcuuu ugugcguugcu ugcccugcu uaccucuuaa gggccgcuuu gacacaugug 300  
ccguacuucg ucagagcua cgcucugaua agguaugcg cuuuggugaa gcagcucgcf 360  
ggggguaggu auguucaggu ggcgcuaauug gcccuuggca gguggacugg caccuacauc 420  
uaugaccacc ucacaccuau gucggacugg gccgcuagcg gccugcgcga cuuagcgguc 480  
gccguggaac ccaucaucuu caguccgaug gagaagaagg ucaucgucug gggagcggag 540  
acggcugcau guggggacau ucuacaugga ciuuccgugu ccgccccacu cggccaggag 600  
auccuccucg gcccagcuga ugcuacacc uccaaggggu ggaagcuccu u 651

<210> 6

<211> 1893

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> NS3 protein-coding sequence of hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<400> 6

gcucccauca cugcuuaugc ccagcaaaca cgaggccucc ugggcgccau aguggugagu 60  
augacggggc gugacaggac agaacaggcc ggggaagucc aaauccuguc cacagucucu 120  
caguccuucc ucggaacaac caucucgggg guuuugugga cuguuuacca cggagcuggc 180  
aacaagacuc uagccggcuu acgggguccg gucacgcaga uguacucgag ugcugagggg 240  
gacuugguag gcuggcccag cccccuggg accaagucuu ugagccgug caagugugga 300  
gccgucgacc uauaucuggu cacgcggaac gcugauguca ucccgccucg gagacgcggg 360  
gacaagcggg gagcauugcu cucccgaga cccauuucga cnuugaaggg guccucgggg 420  
ggcccgugc ucugccuag gggccacguc guugggcucu uccgagcagc ugugugcucu 480  
cggggcgugg ccaaauccau cgauuucauc cccguugaga cacucgacgu uguuacaagg 540  
ucucccacuu ucagugacaa cagcacgcca cggcugugc cccagaccua ucaggucggg 600  
uacuugcaug cuccaacugg caguggaaag agcaccaagg uccugucgc guaugccgcc 660  
cagggguaca aaguacuagu gcuuaacccc ucgguagcug ccacccuggg guuuggggcg 720  
uaccuaucca aggcaccaugg caucaaaucc aacauuagga cuggagucag gaccgugaug 780  
accggggagg ccaucacgua cuccacauau ggcaaaauuc ucggcgaugg gggcugcgcu 840  
agcggcgccu augacaucau cauaugcgau gaaugccacg cuguggaugh uaccuccauu 900  
cucggcaucg gaacgguccu ugaucaagca gagacagccg gggucagacu aacugugcug 960  
gcuacggcca caccccccgg gucagugaca accccccauc ccgauauaga agagguagggc 1020  
cucgggcggg agggugagau cccuucuau gggagggcga uuccccuauc cugcaucaag 1080

ggagggagac accugauuu cugccacuca aagaaaaagu gugacgagcu cgcgccggcc 1140  
cuucggggca uggttgcuugaa ugccguggca uacuauagag gguuggacgu cuccauaaua 1200  
ccagcucagg gagauguggu ggucgucgccc accgacgccc ucaugacggg guacacugga 1260  
gacuuugacu ccgugaucga cugcaaugua gcggucaccc aagcugucga cuucagccug 1320  
gaccaccu ucacuauaac cacacagacu gucccacaag acgcugucuc acgcagucag 1380  
cgccgcgggc gcacagguag aggaagacag ggcacuuuaa gguauuuuc cacuggugaa 1440  
cgagccucag gaauguuuga caguguagug cuuugugagu gcuacgacgc agggcugcg 1500  
ugguacgauc ucacaccagg ggagaccacc gucaggcuua gagcguauu caacacgccc 1560  
ggccuacccg ugugucaaga ccaucuugaa uuuugggagg caguuuucac cggccucaca 1620  
cacauagacg cccacuuccu cucccaaaca aagcaagcgg gggagaacuu cgcguaccua 1680  
guagccuacc aagcuacggu gugcgccaga gccaaaggccc cucccccgc cugggacgcc 1740  
auguggaagu gccuggcccg acucaagccu acgcuugcgg gccccacacc ucuccuguac 1800  
cguuugggccc cuauuaccaa ugaggucacc cucacacacc cugggacgaa guacaucgcc 1860  
acaugcaugc aagcugaccu ugaggucaug acc 1893

<210> 7

<211> 162

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> NS4A protein-coding sequence of hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<400> 7

agcacguggg uccuagcugg aggaguccug gcagccgucg ccgcauauug ccuggcgacu 60  
ggaugcguuu ccaucaucgg ccgcuugcac gucaaccagc gagucgucgu ugcgccggau 120  
aaggaggucc uguauugagc uuuugaugag auggaggaau gc 162

<210> 8

<211> 783

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> NS4B protein-coding sequence of hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<400> 8

gccucuaggg cggcucuau cgaagagggg cagcgauag ccgagauguu gaaguccaag 60  
auccaaggcu ugcugcagca ggccucuaag caggcccagg acauacaacc cgcuaugcag 120  
gcuucauggc ccaaagugga acaauuuugg gccagacaca uguggaacuu cauuagcggc 180  
auccaaauacc ucgaggauu gucaacacug ccagggaaacc ccgcgguggc uuccaugaug 240  
gcaaucagug ccgcccucac caguccguug ucgaccagua ccaccauccu ucuacaac 300  
augggaggcu gguuagcgcuc ccagaucgca ccaccgcgg gggccaccgg cuuugucgc 360  
aguggccugg ugaaaaauggcugc cgugggcagc auaggccugg guaaggugcu gguggacauc 420  
cuggcaggau auggugcggg cauuucgggg gcccucguug caucaagau caugucuggc 480  
gagaagccu cuauggaaga ugucaucaa cuacugccug ggauccuguc uccgggagcc 540  
cugguggugg gggucaucug cgcggccauu cugcgccgccc acgugggacc gggggagggc 600  
gcgguccaaau ggaugaacag gcuuauugcc uuugcuucca gagaaacca cgucgccccu 660  
acucacuacg ugacggaguc ggaugcguug cagcguguga cccaaacuacu ugucucuu 720  
acuauaaacca gcuuacucag aagacuccac aauuggauaa cugaggacug ccccauccca 780  
ugc

783

<210> 9

<211> 1398

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> NS5A protein-coding sequence of hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<400> 9

uccggauccu ggcuccgcga cgugugggac uggguuugca ccaucuugac agacuucaaa 60  
aauuggcuga ccucuaaauu guuccccaag cugcccggcc ucccciuucau cucuugucaa 120  
aaggguaca agggugugug ggccggcacu ggcaucauga ccacgcgcug cccuugcggc 180  
gccaacaucu cuggcaaugu ccggcugggc ucuaugagga ucacagggcc uaaaaccugc 240  
augaacaccu ggcaggggac cuuuccuauc aauugcuaca cggagggcca gugcgccgc 300  
aaaccccca cgaacuacaa gaccgccauc uggagggugg cggccucgga guacgcccgg 360  
gugacgcagc augggucgua cuccuaugua acaggacuga ccacugacaa ucugaaaaauu 420  
ccuugccaaac uacciuuccc agaguuuuuuc uccugggugg acggugugca gauccauagg 480  
uuugcaccca caccaaagcc guuuuuccgg gaugaggucu cguucugcgu uggtcuuaau 540  
uccuaugcug ucggguucca gciuuccugu gaaccugagc ccgacgcaga cguauugagg 600  
uccaugcuua cagauccgcc ccacaucacg gcggagacug cggcgccgcg cuuggcacgg 660  
ggaucaccuc caucugaggc gagcuccuca gugagccagc uaucagcacc gucgcugcgg 720  
gccaccugca ccacccacag caacaccua gacguggaca uggtucgaugc caaccugcuc 780  
auggagggcg guguggcuca gacagagccu gaguccaggg ugcccguucu ggacuuucuc 840  
gagccaaugg ccgaggaaga gagcgaccuu gagccucaa uaccaucgga gugcaugcuc 900  
cccaggagcg gguuuccacg ggccuuaccg gciuugggcac ggccugacua caaccgcgc 960  
cucguggaaau cguggaggag gccagauuac caaccgcccc ccguugcugg uugugcucuc 1020  
cccccccca agaaggcccc gacgccuccc ccaaggagac gccggacagu gggucugagc 1080  
gagagcacca uaucagaagc ccuccagcaa cuggccauca agaccuuugg ccagcccccc 1140  
ucgagcggug augcaggcuc guccacgggg gcggcgccg ccgaauccgg cgguccgcacg 1200

uccccuggug agccggcccc cucagagaca gguuccgccc ccucuaugcc cccccucgag 1260  
ggggagccug gagauccgga ccuggagucu gaucagguaag agcuucaacc ucccccccgag 1320  
gggggggggg uagcucccgg uucgggcucg gggucuuggu cuacuugcuc cgaggaggac 1380  
gauaccaccg ugugcugc 1398

<210> 10

<211> 1773

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> NS5B protein-coding sequence of hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<400> 10

uccauguau acuccuggac cggggcucua auaacuccu guagccccga agagggaaaag 60  
uugccaau accuuugag uaacucgcug uugc gauacc auuacaaggu guacuguaca 120  
acauaaaga gcgccucaca gagggcuaaa aagguaacuu uugacaggac gcaagugcuc 180  
gacgcccauu augacucagu cuuaaaggac auca agcuag cggciucca ggucagcgca 240  
aggcuuccu cauuggagga ggcgugccag uugacuccac cccauucugc aagauccaag 300  
uauggauucg gggccaagga gguccgcagc uuguccggga gggccguuaa ccacaucaag 360  
uccgugugga aggaccuccu ggaagaccca caaacacca uucccacaac caucauggcc 420  
aaaaaugagg uguucugcgu ggaccccgcc aaggggggua agaaaccagc ucgccuauc 480  
guuuaccug accucggcgu ccgggucugc gagaaaaugg ccucuauga cauuacacaa 540  
agcuccuc aggcgguau gggagcucc uaggcuucc aguacucccc ugcccaacgg 600  
guggaguauc uciugaaagc auggggggaa aagaaggacc ccauggguuu uucguaugau 660  
acccgaugc ucgacuac cguacugag agacauca ggaccgagga guccauauac 720  
caggccugu cccugcccga ggaggcccgc acugccauac acucgugac ugagagacuu 780

uacguaggag ggcccauguu caacagcaag ggucaaaccu gcgguuacag acguugccgc 840  
gccagcgggg ugcuaaccac uagcaugggu aacaccauca caugcuaugu gaaagcccua 900  
gcggccugca aggugcggg gauaguugcg cccacaaugc ugguaugcgg cgaugaccua 960  
guagucaucu cagaaagcca gggacugag gaggacgagc ggaaccugag agccuucacg 1020  
gaggccauga ccagguacuc ugccccuccu ggugaucccc ccagaccgga auaugaccug 1080  
gagcuaauaa cauccuguuc cucaaauugug ucuguggcgu ugcccgcg gggccgcgc 1140  
agauacuacc ugaccagaga cccaaccacu ccacucgccc gggcugccug ggaaacaguu 1200  
agacacuccc cuaucaauuc auggcuggga aacaucucc aguaugcucc aaccauaugg 1260  
guucgcaugg uccuaaugac acaciuucuuc uccauucuca ugguccaaga cacccuggac 1320  
cagaaccuca acuuugagau guauggauca guauacuccg ugaaucuuu ggaccuucca 1380  
gccauaauug agagguuaca cggcuugac gccuuuucua ugcacacaua cucucaccac 1440  
gaacugacgc ggguggcuuc agcccucaga aaacuugggg cgccacccu cagggugugg 1500  
aagagucggg cucgcgcagu cagggcgucc cuaucuccc guggagggaa agcggccguu 1560  
ugcggccgau aucuuucaa uuggcggug aagaccaagc ucaaacucac uccauugccg 1620  
gaggcgcgc uacuggacuu auccaguugg uucaccguug gcgccggcgg gggcgacauu 1680  
uuucacagcg ugucgcgcgc ccgacccgc ucauuacucu ucggccuacu cnuacuuuuc 1740  
guagggguag gccucuuccu acuccccguu cgg 1773

<210> 11

<211> 239

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> 3' non-translated region of hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<400> 11

uagagcggca cacacuaggu acacuccaua gcuaacuguu ccuuuuuuuu uuuuuuuuuu 60  
uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu cccucuuucu uccciucuca 120  
ucuuauucua cuuucuuucu ugugggcucc aucuuagccc uagucacggc uagcugugaa 180  
agguccguga gccgcaugac ugcagagagu gccguaacug gucucucugc agaucaugu 239

<210> 12

<211> 9707

<212> RNA

<213> Hepatitis C virus

<220>

<223> full-length Hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<400> 12

gaauucuaau acgacucacu auagaccugc cccuaauagg ggcgacacuc cgccaugaaau 60  
cacuccccug ugaggaacua cugucuucac gcagaaaagcg ccuagccaug gcguuaguau 120  
gagugucgua cagccuccag gcccccccu cccgggagag ccauaguggu cugcggaaacc 180  
ggugaguaca cggaaauugc cggaaagacu ggguccuuuc uuggauaaac ccacucuaug 240  
cccgcccauu uggtcgugcc cccgcaagac ugcuagccga guagcguugg guugcgaaag 300  
gccuuguggu acugccugau agggcgcuug cgagugcccc gggaggucuc guagaccgug 360  
caccaugagc acaaauccua aaccucaaag aaaaaccaaa agaaacacca accgucgccc 420  
agaagacguu aaguucccg gcggcgccca gaucguuggc ggaguauacu uguugccgcf 480  
cagggccccc agguugggug ugcgcacgac aaggaaaacu ucggagcggu cccagccacg 540  
ugggagacgc cagcccaucc ccaaagaucg gcgcuccacu ggcaaggccu gggaaaaacc 600  
aggucgcccc ugccccaua auggaauga gggacucggc uggtcaggau ggcuccuguc 660  
cccccgaggc ucucgccccu ccugggcccc cacugacccc cggcauaggu cgcgcaacgu 720  
ggguuaaguc aucgacaccc uaacgugugg cuuugccgac cucauggggu acauccccgu 780  
cguaggcgcc ccgcuuagug gcgcggccag agcugucgcf cacggcguga gaguccugga 840

ggacgggguu aauuaugcaa cagggAACCU acccgguuuc cccuuuuucua ucuucuugcu 900  
ggcccuguug uccugcauca ccguuccggu cucugcugcc caggugaaga auaccaguag 960  
cagcuacaug gugaccaaug acugcuccaa ugacagcauc acuuggcagc ucgaggcugc 1020  
gguucuccac guccccgggu gcgucccgug cgagagagug gggaaauacgu cacgguguug 1080  
ggugccaguc ucGCCaaaca uggcugugcg gcagcccggu gcccuacacgc agggucugcg 1140  
gacgcacauc gauaugguug ugauguccgc cacciuucugc ucugcucucu acguggggga 1200  
ccucuguggc gggugugauc ucgcggccca gguguucauc gucucgcccgc aguaccacug 1260  
guuugugcaa gaaugcaauu gcuccaucua cccuggcacc aucacuggac accgcauggc 1320  
augggacaug augaugaacu ggucgcccac ggccaccaug auccuggcgu acgugaugcg 1380  
cgucccccag gucaucauag acaucguuag cggggcucac ugffffcguca uguucggcuu 1440  
ggccuaciuc ucuaugcagg gagcgugggc gaaggguauu gucauccuuc ugcuggccgc 1500  
ugggguggac gcgggcacca ccaccguugg aggccuguu gcacguucca ccaacgugau 1560  
ugccggcgug uucagccaug gcccucagca gaacauucag cucauuuaca ccaacggcag 1620  
uuggcacauc aaccguacug cciugaaauug caaugacucc uugaacacccg gciuucucgc 1680  
ggccuuguuc uacaccaacc gciuuaacuc gucagggugu ccagggcgcc uguccggcug 1740  
ccgcaacauc gaggcuuucc ggauagggug gggcacccua caguacgagg auaaugucac 1800  
caauccagag gauauggaggc cguacugcug gcacuacccc ccaaagccgu guggcguagu 1860  
ccccgcgagg ucugugugug gcccagugua cuguuucacc cccagcccg uaguaguggg 1920  
cacgaccgac agacguggag ugcccaccua cacauggga gagaauugaga cagaugucuu 1980  
ccuacugaac agcacccgac cgccgcaggg cuauugguuc ggcugcacgu ggaugaacuc 2040  
cacugguuuc accaagacuu guggcgcgc accuugccgc accagagcug acuuaacgc 2100  
cagcacggac uuguugugcc cuacggauug uuuuaggaag cauccugaug ccacuuauau 2160  
uaaguguggu ucugggccc ggcucacacc aaagugccug guccacuacc cuuacagacu 2220  
cuggcauuac cccugcacag ucaauuuuac caucucaag auaagaauu auguaggggg 2280  
gguugagcac aggcucacgg ccgcaugcaa cuucacucgu ggggaucgcu ggcacuugga 2340  
ggacagggac aggagucagc ugucuccu guugcacucu accacggaa gggccauccu 2400  
gccugcacc uacucagacu uacccgcuuu guaacuggu cuicuccacc uucaccagaa 2460  
caucguggac guacaauaca uguauuggccu cucaccugcu aucacaaaaau acgucguucg 2520  
augggagugg gugguacucu uauuccugcu cuuagcggac ggcagagucu ggcgcugcu 2580

guggaungcuc aucuuguugg gccaggccga agcagcauug gagaaguugg ucgucuugca 2640  
cgcugcgagu gcggcuaacu gccauggccu ccuaauuuu gccaucuucu ucguggcagc 2700  
uuggcacauc agggucggg uggucccuu gaccaccuaau ugccucacug gccuauggcc 2760  
cuucugccua cugcucaugg cacugccccg gcaggcuuau gccuaugacg caccugugca 2820  
cgacagaua ggcguggguu uguugauuuu gaucacccuc uucacacuca ccccgggua 2880  
uaagacccuc cucggccagu gucuguggug guugugcuau cuccugaccc ugggggaagc 2940  
caugauucag gaguggguac caccaugca ggugcgcggc ggccgcgaug gcaucgcgug 3000  
ggccgucacu auauucugcc cgguguggu guuugacauu accaaauggc uuuggcguu 3060  
gcuugggccu gcuuaccucu uaagggccgc uuugacacau gugccguacu ucgucagagc 3120  
ucacgcucug auaggguau ggcuuuggu gaagcagcuc gcggggggua gguauuuca 3180  
gguggcgcua uuggccuug gcagguggac ugacccuac aucuaugacc accucacacc 3240  
uaugucggac ugcccgcua cggccugcg cgacuuagcg guccgcgugg aacccaucau 3300  
cuucaguccg auggagaaga aggucaucgu cuggggagcg gagacggcug caugugggga 3360  
cauucuacau ggacuucccg ugcccgcag acucggccag gagauccucc ucggcccagc 3420  
ugauggcuac accuccaagg gguggaagcu cciugcuccc aucacugcuu augcccagca 3480  
aacacgaggc cuccuggcg ccauaguggu gaguaugacg gggcgugaca ggacagaaca 3540  
ggccggggaa guccaaaucc ugcccacagu cucucagucc uccucggaa caaccaucuc 3600  
gggguuuug ugacuguuu accacggagc ugcaacaag acucuagccg gcuuacgggg 3660  
uccggucacg cagauguacu cgagugcuga ggggacuug guaggcuggc ccagcccc 3720  
ugggaccaag ucuuuggagc cgugcaagug ugagccguc gaccuauac ugucacgac 3780  
gaacgcugau gucaucccg cucggagacg cgggacaag cgggagcau ucucucccc 3840  
gagacccauu ucgaccuuga aggguccuc gggggggccg gugcucugcc cuagggcca 3900  
cgucguuggg cucuuccgag cagcugugug cucucgggc guggccaaau ccaucgauuu 3960  
cauccccguu gagacacucg acguuguuac aaggucuccc acuuucagug acaacagcac 4020  
gccaccggcu gugcccgaga ccuaucaggu cggguacuug caugcuccaa cuggcagugg 4080  
aaagagcacc aaggucccug ucgcguaugc cggccagggg uacaaaguac uagugcuuua 4140  
ccccucggua gcugccaccc ugguugg ggcguaccua uccaaggcac auggcaucaa 4200  
ucccaacauu aggacuggag ucaggaccgu gaugaccggg gaggccauca cguacuccac 4260  
auauggcaaa uuucucggcg auggggcug cgcuagcggc gccuaugaca ucaucauaug 4320

cgaugaaugc cacgcugugg augcuaccuc cauucucggc aucggaacgg uccuugaauca 4380  
agcagagaca gccgggguca gacuaacugu gcuggcuacg gccacacccc ccgggucagu 4440  
gacaacccccc caucccgaua uagaagaggu aggccucggg cgggaggggug agaucccuu 4500  
cuaugggagg gcgauucccc uauccugcau caagggaggg agacaccuga uuucugcca 4560  
cucaaagaaa aagugugacg agcucgcggc ggcccuiucgg ggcaugggcu ugaaugccgu 4620  
ggcauacuau agaggguugg acgucuccau aauaccagcu cagggagaaug uguggugcgu 4680  
cgccaccgac gcccucauga cgggguacac uggagacuuu gacuccguga ucgacugcaa 4740  
uguagcgguc acccaagcug ucgacuucag ccuggacccc accuucacua uaaccacaca 4800  
gacuguccca caagacgcug ucucacgcag ucagcgccgc gggcgcacag guagaggaag 4860  
acagggcacu uauagguaug uiuccacugg ugaacgagcc ucagggaaug uugacagugu 4920  
agugcuuugu gagugcuacg acgcaggggc ugcgugguac gaucucacac cagcggagac 4980  
caccgucagg cuuagagcgu auuucaacac gcccgccua cccguguguc aagaccaucu 5040  
ugaauuuugg gaggcaguuu ucaccggccu cacacacaua gacgcccacu uccucucca 5100  
aacaaagcaa gcgggggaga acuucgcua ccuaguagcc uaccaagcua cggugugcgc 5160  
cagagccaag gccccucccc cguccuggga cgccaugugg aagugccugg cccgacucaa 5220  
gccuacgcuu gcgggccccca caccucuccu guaccguuug ggccuauua ccaaugaggu 5280  
caccucaca cacccuggga cgaaguacau cgccacaugc augcaagcug accuugaggu 5340  
caugaccagc acgugggucc uagcuggagg aguccuggca gccgucgccc cauauugccu 5400  
ggcgacugga ugcguuucca ucaucggccg cuugcacguc aaccagcgag ucgucguugc 5460  
gccggauaag gagguccugu augaggcuuu ugaugagaaug gagggaaugcg ccucuagggc 5520  
ggcucucauc gaagaggggc agcgauagc cgagauguug aaguuccaaga uccaaggccu 5580  
gcugcagcag gccucuaagc aggcccagga cauacaaccc gcuaugcagg cuucauggcc 5640  
caaaguggaa caauuuuggg ccagacacau guggaacuuc auuagcggca uccaaauaccu 5700  
cgcaggauug ucaacacugc caggaaaccc cgcguggcu uccauggaugg cauucagugc 5760  
cgcccucacc aguccguugu cgaccaguac caccauccuu cuacaacaua ugaggaggcug 5820  
guuagcgucc cagaucgcac cacccgcggg ggccaccggc uuugucguca guggccuggu 5880  
ggggcugcc gugggcagca uaggccuggg uaaggugcug guggacaucc uggcaggaua 5940  
uggugcgggc auuucggggg cccucgucgc auucaagauc augucuggcg agaagcccuc 6000  
uauggaagau gucaucaauc uacugccugg gauccugucu ccgggagccc ugugguggg 6060

ggucaucugc gcggccauuc ugcccgcua cgugggaccg ggggagggcg cgguccaaug 6120  
gaugaacagg cuuauugccu uugcuuccag aggaaaccac gucccua cucacuacgu 6180  
gacggagucg gaugcgcugc agcgugugac ccaacuacuu ggcucucuuua cuauaaccag 6240  
ccuacucaga agacuccaca auuggauaac ugaggacugc cccauccau gcuccggauc 6300  
cuggcuccgc gacguguggg acuggguuug caccaucuug acagacuuca aaaauuggcu 6360  
gaccucuaaa uuguuuccca agcugcccg ccuccccuuc aucucuuguc aaaagggua 6420  
caagggugug ugcccggca cuggcaucau gaccacgcgc ugcccugcg ggcacacau 6480  
cucuggcaau guccgccugg gcucuaugag gaucacaggg ccuaaaaccu gcaugaacac 6540  
cuggcagggg accuuuccua ucaauugcua cacggagggc cagugcgcgc cgaaaccccc 6600  
cacgaacuac aagaccgcca ucuggagggu ggcggccucg gaguacgcgg aggugacgca 6660  
gcaugggucc uacuccuaug uaacaggacu gaccacugac aaucugaaaa uuccuugcca 6720  
acuaccuucu ccagaguuuu ucuccuggu ggacggugug cagauccaa gguuugcacc 6780  
cacaccaaag ccguuuuuucc ggaaugaggu cucguucugc guuggcuua auuccuaugc 6840  
ugucgggucc cagciuccu guaaccuga gcccgcac gacguauuga gguccaugcu 6900  
aacagauccg ccccacauca cggcgagac ugcggcgccg cgcuuggcac gggaucacc 6960  
uccaucugag gcgagcuccu cagugagcca gcuaucagca ccgucgcugc gggccaccug 7020  
caccacccac agcaacaccu augacgugga cauggucgau gccaaccugc ucauggaggg 7080  
cgugugggcu cagacagagc cugaguccag ggugcccggu cuggacuuuc ucgagccaa 7140  
ggccgaggaa gagagcgacc uugagccuc aauaccaucg gagugcaugc ucccccaggag 7200  
cgguuuucca cggccuuac cggcuugggc acggccugac uacaaccgc cgcucgugga 7260  
aucguggagg aggccagauu accaaccgc caccguugcu gguugugcuc uccccccccc 7320  
caagaaggcc cgcacgcuc ccccaaggag acgcccggaca guggucuga gcgagagcac 7380  
cauaucagaa gccucccagc aacuggccau caagaccuuu ggccagcccc ccucgagcgg 7440  
ugaugcaggc ucguccacgg gggcgccgc cgccgaaucc ggcgguccga cgucccccugg 7500  
ugagccggcc cccucagaga cagguuccgc cuccucuaug ccccccucg agggggagcc 7560  
uggagauccg gaccuggagu cugaucaggu agaciucaa ccuccccccc aggggggggg 7620  
gguagcuccc gguucggcu cggggucuug guacuacuugc uccgaggagg acgauaccac 7680  
cgugugcugc uccaugucau acuccuggac cggggcucua auaacuccu guagccccga 7740  
agaggaaaag uugccaaucu accuuugag uaacucgcug uugcgauacc auaacaagg 7800

guacuguaca acaucaaaga gcgccucaca gagggcuaaa aagguaacuu uugacag~~g~~ac 7860  
gcaagugcuc gacgcccauu augacucagu cuuaaaggac aucaagcuag cggciuccaa 7920  
ggucagcgca aggcuccuca cciuggagga ggcgugccag uugacuccac cccauucugc 7980  
aagauccaag uauggauucg gggccaagga gguccgcagc uuguccggga gggccguuuaa 8040  
ccacaucaag uccgugugga aggaccuccu ggaagaccca caaacaccaa uucccacaac 8100  
caucauggcc aaaaugagg uguucugcgu ggaccccgcc aagggggua agaaacc~~a~~gc 8160  
ucgccucauc guuuacccug accucggcgu ccgggucugc gagaaaaugg cccucuauga 8220  
cauuacacaa aagciuccuc aggcguaau gggagcuucc uauggciucc aguacuc~~ccc~~ 8280  
ugcccaacgg guggaguauc ucuugaaagc augggcgaa aagaaggacc ccauggguuu 8340  
uucguaugau acccgaugcu ucgacucaac cgucacugag agagacauca ggaccgagga 8400  
guccauauac caggccugcu cccugcccga ggaggcccgc acugccauac acucgc~~u~~gac 8460  
ugagagacuu uacguaggag gcccuauguu caacagcaag ggucaaaccu gcggua~~a~~cag 8520  
acguugccgc gccagcg~~gg~~gg ugcuaaccac uagcauggu aacaccauca caugcuaugu 8580  
gaaagccua gcggccugca aggugcggg gauaguugcg cccacaaugc ugguaugcgg 8640  
cgaugaccua guagucaucu cagaaagcca gggacugag gaggacgagc ggaacc~~u~~gag 8700  
agcciuac~~g~~ gaggccauga ccagguacuc ugccccuccu ggugauccc ccagacc~~g~~ga 8760  
auaugaccug gagcuaauaa cauccuguuc cuaaaaugug ucuguggcgu ug~~gg~~cc~~g~~ccg 8820  
ggccgcccgc agauacuacc ugaccagaga cccacccacu ccacucgccc gggcugc~~c~~ug 8880  
ggaaacaguu agacacuccc cuaucaauiuc auggcuggga aacaucaucc aguaugc~~u~~cc 8940  
aaccauaugg guucgcaugg uccuaaugac acaciuuciuc uccauucuca uggucca~~a~~ga 9000  
cacccuggac cagaaccuca acuuugagau guauggauca guauacuccg ugaauc~~cc~~uuu 9060  
ggacciuucca gccaauauug agagguuaca cggcuugac gcuuuuucua ugcacac~~a~~ua 9120  
cucucaccac gaacugacgc ggguggcuuc agcccucaga aaacuugggg cgccacc~~cc~~u 9180  
cagggugugg aagagucggg cucgcgcagu cagggcgucc cuaucuccc guggagggaa 9240  
agcggccg~~uu~~ ug~~gg~~ccg~~g~~gau aucucucaa uuggcggug aagaccaagc ucaaaciucac 9300  
uccauugccg gaggcgc~~g~~cc uacuggacuu auccaguugg uucaccgu~~g~~ ggc~~cc~~ggc~~g~~gg 9360  
ggcgacauu uuucacagcg ugucgcgcgc cccgacccgc ucauuacu~~u~~ ucg~~gg~~cc~~u~~acu 9420  
ccuacuuuuc guagggguag gccc~~u~~ccu acuccccgcu cgguagagcg gcacac~~a~~ua 9480  
guuacacucc auagcuaacu guuccuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu 9540

uuuuuuuuucu uuuuuuuuuu uuuccucuu ucuucccuuc ucaucuuau cuacuuucuu 9600  
ucuuggggc uccaucuuag cccuagucac ggcuagcugu gaaagguccg ugagccgcau 9660  
gacugcagag agugccguaa cuggucucuc ugcagaucau gucuaga . 9707

〈210〉 13

211 <211> 11111

<212> RNA

### 〈213〉 Artificial Sequence

〈220〉

<223> Description of Artificial Sequence: replicon RNA comprising full-length Hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone

<400> 13

accugccccu aauaggggcg acacuccgcu augaaucacu cccugugag gaacuacugu 60  
cuucacgcag aaagcgccua gccauggcgu uaguaugagu gucguacagc cuccaggccc 120  
ccccucccg ggagagccau aguggucugc ggaaccggug aguacaccgg aauugccggg 180  
aagacugggu ccuuucuugg auaaaccac ucuaugcccg gccaauuuggg cgugccccg 240  
caagacugcu agccgaguag cguuggguug cgaaaggccu ugugguacug ccugauaggg 300  
cgcuugcgag ugccccggga ggucucguag accgugcacc augagcacaa auccuaaacc 360  
ucaaagaaaa accaaaagaa acaccaaccg ucgcccaaau gauugaacaag auggauugca 420  
cgcagguucu cggccgcuu ggguggagag gcuauucggc uaugacuggg cacaacagac 480  
aucggcugc ucugaugccg ccguguuccg gcugucagcg cagggcgcc cgguucuuuu 540  
ugucaagacc gaccuguccg gugccugaa ugaacugcag gacgaggcag cgccggcuauc 600  
guggcuggcc acgacggcg uuccuugcgc agcugugcuc gacguuguca cugaagcggg 660  
aaggacugg cugcuauugg gcgaagugcc gggcaggau cuccuguau cucaccuugc 720  
uccugccgag aaaguaucca ucauggcuga ugcaaugcgg cggcugcaua cgcuugaucc 780  
ggcuaccugc ccauucgacc accaagcgaa acaucgcauc gagcgagcac guacucggau 840

ggaagccggu cuugucgauc aggaugaucu ggacgaagag caucagggc ucgcgccagc 900  
cgaacuguuc gccaggcuca aggcgcgcau gcccgcacggc gaggaucucg ucgugaccca 960  
uggcgaugcc ugcuugccga auaucauggu ggaaaauuggc cgcuuuucug gauucaucga 1020  
cuguggccgg cugggugugg cggaccgcua ucaggacaua gcguuggcua cccgugauau 1080  
ugcugaagag cuuggcggcg aaugggcuga ccgcuuccuc gugcuuuacg guaucgcgc 1140  
ucccgauucg cagcgcaucg cciucuaucg cciucuugac gagiuucuucu gaguuuuaac 1200  
ccucuccuc ccccccccu aacguuacug gccgaagccg cuuggaaaua ggccggugug 1260  
cguuugucua uauguuauuu uccaccauau ugccgucuuu ugccaugug agggcccgga 1320  
aaccuggccc uguciucuug acgagcauuc cuaggggucu uiucucucuc gccaaaggaa 1380  
ugcaaggucu guugaauguc gugaaggaag caguuccucu ggaagcuucu ugaagacaaa 1440  
caacgucugu agcgaccuu ugcaggcagc ggaacccccc accuggcgac aggugccucu 1500  
gcggccaaaa gccacgugua uaagauacac cugcaaaggc ggcacaaccc cagugccacg 1560  
uugugaguug gauaguugug gaaagaguca aauggcucuc cucaagcgua uucaacaagg 1620  
ggcugaagga ugcccagaag guaccccauu guaugggauc ugaucugggg ccucggugca 1680  
caugcuuuac auguguuuag ucgagguuaa aaaaacgucu aggcccccg aaccacgggg 1740  
acgugguuuu ccuuugaaaa acacgaugau accaugagca caaaucuaa accucaaaga 1800  
aaaaccaaaa gaaacaccaa ccgucgccc gaagacguua aguucccgaa cggcggccag 1860  
aucguuggcg gagauuacuu guugccgcgc agggccccca gguugggugu ggcacgaca 1920  
aggaaaacuu cggagcgguc ccagccacgu gggagacgcc agcccauccc caaagaucgg 1980  
cgcuccacug gcaaggccug gggaaaaacca ggucgccccu ggccccuaa uggaauag 2040  
ggacucggcu gggcaggaug gcuccugucc ccccgaggcu cucgccccuc cugggcccc 2100  
acugacccccc ggcauagguc ggcacacgug guuaaaguca ucgacacccu aacguguggc 2160  
uuugccgacc ucaugggua cauccccguc guaggcgccc cgccuagugg cgccgccaga 2220  
gcugucgcgc acggcgugag aguccuggag gacggggua auuaugcaac aggaaaccua 2280  
cccgguuucc ccuuuucuau cuucuugcug gcccuguugu ccugcaucac cguuccgguc 2340  
ucugcugccc aggugaagaa uaccaguagc agcuacaugg ugaccaauga cugcuccaa 2400  
gacagcauca cuuggcagcu cgaggcugcg guucuccacg ucccccggug cgucccgugc 2460  
gagagagugg ggaauacguc acgguguugg gugccagucu cgccaaacau ggcugugcgg 2520  
cagcccgugug cccucacgca gggucugcgg acgcacaucg auauugguugu gauguccgccc 2580

accuucugcu cugcucucua cguggggac cucuguggcg gggugaugcu cgcgcccag 2640  
guguucaucg ucucgccgca guaccacugg uuugugcaag aaugcaauug cuccaucuac 2700  
ccuggcacca ucacuggaca ccgcauggca uggaacauga ugaugaacug gucgcccacg 2760  
gccaccauga uccuggcgua cgugaugcgc guccccgagg ucaucauaga caucguuagc 2820  
ggggcucacu gggcgcuau guucggcuug gccuaciucu cuaugcaggg agcgugggcg 2880  
aaggucauug ucauccuucu gcuggccgcu ggggugggacg cgggcaccac caccguugga 2940  
ggcgcuguug cacguuccac caacgugauu gccggcgugu ucagccaugg cccucagcag 3000  
aacauucagc ucauuuacac caacggcagu uggcacauca accguacugc cuugaaugc 3060  
aaugacuccu ugaacaccgg ciuucucgcf gccuuguuuc acaccaaccg cuuuaacucg 3120  
ucaggguguc cagggcgccu guccgcccugc cgcaacaucg aggciuuccg gauagggugg 3180  
ggcacccuac aguacgagga uaaugucacc aauccagagg auaugaggcc guacugcugg 3240  
cacuaccccc caaagccgug uggcguaguc cccgcgaggu cugugugugg cccaguguac 3300  
uguuucaccc ccagcccggu aguagugggc acgaccgaca gacguggagu gcccaccuac 3360  
acauggggag agaaugagac agaugucuuc cuacugaaca gcacccgacc gccgcagggc 3420  
ucaugguucg gcugcacgug gaugaacucc acugguuuca ccaagacuug ugvcgccc 3480  
ccuugccgca ccagagcuga cuucaacgca agcacggacu uguugugccc uacggauugu 3540  
uuuaggaagc auccugaugc cacuuauuu aagugugguu cugggcccug gcucacacca 3600  
aagugccugg uccacuaccc uuacagacuc uggcauuacc ccugcacagu caauuuuacc 3660  
aucuucaaga uaagaaugua uguaggggg guugagcaca ggcucacggc cgcaugcaac 3720  
uucacucgug gggauucgcug cgacuuggag gacagggaca ggagucagcu gucuccucug 3780  
uugcacucua ccacggaaug ggc当地ccug cccugcaccu acucagacuu acccgciuug 3840  
ucaacugguc uucuccaccu ucaccagaac aucguggacg uacaauacau guauggccuc 3900  
ucaccugcua ucacaaaaua cgucguucga uggaaguggg ugguacucuu auuccugcuc 3960  
uuagcggacg ccagagucug cgc当地ccug uggaugcuca ucuuguuggg ccaggccgaa 4020  
gcagcauugg agaaguuggu cgucuugcgc gcugcgagug cggcuaacug ccauggccuc 4080  
cuauuuuug ccauciucuu cguggcagcu uggcacauca gggucgggu gguccccc 4140  
accaccuauu gccucacugg ccuauggccc uucugccuac ugcucuaggc acugcccccgg 4200  
caggcuuauug ccuaugacgc accugugcgc ggacagauag gcguggguuu guugauauug 4260  
aucacccucu ucacacucac cccggggua aagacccucc ucggccagug ucuguggugg 4320

uugugcuauc uccugacccu gggggaagcc augauucagg aguggguacc acccaugcag 4380  
gugcgcggcg gccgcgaugg caucgcgugg gccgucacua uauucugccc ggguguggug 4440  
uuugacauua ccaaauggcu uuuggcguug cuugggcuug cuuaccucuu aagggccgcu 4500  
uugacacaug ugccguacuu cgucagagcu cacgcucuga uaagguaug cgcuuuggug 4560  
aagcagcucg cggggguag guauguucag gugggcuau ugcccugg cagguggacu 4620  
ggcaccuaca ucuaugacca ccucacaccu augucggacu gggccgcuag cggccugcgc 4680  
gacuuagcgg ucggcugga acccaucauc uucaguccga ugagaagaa ggucaucguc 4740  
uggggagcgg agacggcugc augugggac auucuacaug gacuuccgu guccgcccga 4800  
cucggccagg agauccuccu cggcccagcu gauggcuaca ccuccaaggg guggaagcuc 4860  
cuugcuccca ucacugcuua ugcccagcaa acacgaggcc uccuggcgc cauaguggug 4920  
aguaugacgg ggugugacag gacagaacag gccgggaaag uccaaauccu guccacaguc 4980  
ucucaguccu uccucggAAC aaccaucug ggguuuugu ggacuguuua ccacggagcu 5040  
ggcaacaaga cucuagccgg cuuacgggu ccggucacgc agaguacuc gagugcugag 5100  
ggggacuugg uaggcuggcc cagcccccu gggaccaagu cuuuggagcc gugcaagugu 5160  
ggagccgucg accuauaucu ggucacgcgg aacgcugaug ucauccggc ucggagacgc 5220  
ggggacaagc gggagcauu gcucucccg agaccauuu cgacuugaa ggguccucg 5280  
ggggggccgg ugcucugccc uagggccac gucguugggc uciuccgagc agcugugugc 5340  
ucucggggcg uggccaaauC caucgauuuc aucccgug agacacucga cguuguuaca 5400  
aggucuccca cuuucaguga caacagcacg ccaccggcug ugcccagac cuaucagguc 5460  
ggguacuugc augcuacaC uggcagugga aagagcacca agguccugu cgcuauugcc 5520  
gcccaggggu acaaaguacu agugcuuaac cccucgguaC cugccacccu ggguuuggg 5580  
gcguaccuau ccaaggcaca uggcaucaau cccacauua ggacuggagu caggaccgug 5640  
augaccgggg aggccaucac guacuccaca uuggcaaaau uucucggcga ugffffcugc 5700  
gcuagcggcg ccuaugacau caucauauC gaugaaugcc acgcugugga ugcuaccucc 5760  
auucucggca ucggaaacggu cciugaucaaa gcagagacag ccggggucag acuaacugug 5820  
cuggcuacgg ccacacccccc cggucagug acaacccccc aucccgauau agaagaggua 5880  
ggccucgggc gggaggguga gauccciuc uugggaggg cgauuccccu auccugcauc 5940  
aaggagggga gacaccugau uiucugccac ucaaagaaaa agugugacga gcucgcggcg 6000  
gccciucggg gcauggcguu gaaugccgug gcauacuaua gaggguugga cgucuccaua 6060

auaccagcuc agggagaugu gguggucguc gccaccgacg cccucaugac gggguacacu 6120  
ggagacuuug acuccgugau cgacugcaau guagcgguca cccaaggcugu cgacuucagc 6180  
cuggacccca cciucacuau aaccacacag acugucccac aagacgcugu cucacgcagu 6240  
cagcgccgcg ggcgcacagg uagaggaaga cagggcacuu auagguaugu uuccacuggu 6300  
gaacgagccu caggaauuu ugacagugua gugcuuugug agugcuacga cgcagggcu 6360  
gcgugguacg aucucacacc agcggagacc accgucaggg uuagagcgua uuuacaacacg 6420  
cccggccuac ccguguguca agaccaucuu gaauuuuggg aggcauuuu caccggccuc 6480  
acacacauag acgcccacuu ccucuccaa acaaagcaag cgggggagaa cuucgcguac 6540  
cuaguagccu accaagcuac ggugugcgcc agagccaagg cccucccc guccugggac 6600  
gccaugugga agugccuggc ccgacucaag cciacgcuug cggcccccac accucuccug 6660  
uaccguuugg gcccuaauac caaugagguc acccucacac acccugggac gaaguacauc 6720  
gccacaugca ugcaagcuga cciugagguc augaccagca cguggguccu agcuggagga 6780  
guccuggcag ccgucgcccgc auauugccug gcgacuggau gcguuuccau caucggccgc 6840  
uugcacguca accagcgagu cgucguugcg ccggauaagg agguccugua ugaggcuuuu 6900  
gaugagaugg aggaaugcgc cuciagggcg gcucucaucg aagagggca gcgauagcc 6960  
gagauguuga agucaagau ccaaggcuug cugcagcagg ccucuaagca ggcccaggac 7020  
auacaacccg cuaugcagggc uucauggccc aaaguggaac aauuuugggc cagacacaug 7080  
uggaacuua uuagcggcau ccaauaccuc gcaggauugu caacacugcc agggAACCC 7140  
gcgguggcui ccaugauggc auucagugcc gcccucacca guccguuguc gaccaguacc 7200  
accauccuuc ucaacaucau gggagggcugg uuagcguccc agaucgcacc acccgcgggg 7260  
gccaccggcu uugucgucag uggccuggug gggcugccg ugcccagcau aggccugggu 7320  
aaggugcugg uggacauccu ggcaggauau ggugcgggca uuucggggc ccucgucgca 7380  
uucaagaauca ugucuggcga gaagcccucu auggaagaug ucaucaauct acugccuggg 7440  
auccugucuc cgggagccu gguggugggg guaucugcg cggccauucu gcgccgcccac 7500  
gugggaccgg gggagggcgc guuccaaugg augaacaggc uuauugccuu ugcuuccaga 7560  
ggaaaccacg ucgcuccuac ucacuacug acggagucgg augcguucgca gcgugugacc 7620  
caacuacuug gcucucuuac uauaaccagc cuacucagaa gacuccacaa uuggauaacu 7680  
gaggacugcc ccaucccaug cuccggaucc uggucccgcg acguguggga cuggguuugc 7740  
accaucuuga cagacuucaa aaauuggcug accucuaaaau uguuucccaa gcugcccgcc 7800

cuccccuuca ucucuuguca aaagggguac aaggugugu gggccggcac uggcaucaug 7860  
accacgcgcu gcccuugcgg cgccaacauc ucuggcaaug uccgccuggg cucuaugagg 7920  
aucacagggc cuaaaaccug caugaacacc uggcagggga ccuiuccuau caauugcuac 7980  
acggagggcc agugcgccgaa acgaacuaca agaccgcau cuggagggug 8040  
gcggccucgg aguacgcgga ggugacgcag caugggucgu acuccuaugu aacaggacug 8100  
accacugaca aucugaaaaau uccuugccaa cuaccuucuc cagaguuuuu cuccugggug 8160  
gacggugugc agauccauag guuugcaccc acaccaaagc cguuuuuccg ggaugagguc 8220  
ucguucugcg uugggcuuua uuccuaugcu gucggguccc agcuuccug ugaaccugag 8280  
cccgacgcag acguauugag guccaugcua acagaucgc cccacaucac ggcggagacu 8340  
gcggcgccgc gcuuggcacf gggaucaccu ccaucugagg cgagcuccuc agugagccag 8400  
cuaucagcac cgucgcugcg ggccaccugc accacccaca gcaacaccua ugacguggac 8460  
auggucgaug ccaaccugcu cauggagggc gguguggcuc agacagagcc ugaguccagg 8520  
gugcccguuc uggacuuuucu cgagccaaug gccgaggaag agagcgaccu ugagccuca 8580  
auaccaucgg agugcaugcu ccccaggagc ggguuuccac gggccuuacc ggcuugggca 8640  
cgccugacu acaaccgcgc gcucguggaa ucguggagga ggccagauua ccaaccgccc 8700  
accguugcug guugugcucu cccccccccc aagaaggccc cgacgcccucc cccaaggaga 8760  
cgccggacag ugugcugag cgagagcacc auaucagaag cccuccagca acuggccauc 8820  
aagaccuuug gccagccccc cucgagcggu gaugcaggcu cguccacggg ggcggggcgc 8880  
gccgaaucgg gcgguccgac gucccccuggu gagccggccc ccucagagac agguuccgccc 8940  
uccucuaugc cccccucga gggggagccu ggagauccgg accuggaguc ugaucaggua 9000  
gagcuucaac cucccccac ggggggggggu guagcucccg guucgggcuc ggggucuugg 9060  
ucuacuugcu ccgaggagga cgauaccacc gugugcugcu ccaugucaua cuccuggacc 9120  
ggggcucuua uaacuccug uagccccgaa gagaaaaagu ugccaaucua cccuuugagu 9180  
aacucgcugu ugcgauacca uaacaaggug uacuguacaa caucaaagag cgccucacag 9240  
aggcuaaaa agguaacuuu ugacaggacg caagugcucg acgcccuaua ugacucaguc 9300  
uuuaaggaca ucaagcuagc ggcuuccaag gucagcgcaa ggcuccucac cuuggaggag 9360  
gcgugccagu ugacuccacc ccauucugca agauccaagu auggauucgg ggccaaggag 9420  
guccgcagcu uguccggag ggccguuaac cacaucaagu ccguguggaa ggaccuccug 9480  
gaagacccac aaacaccaau ucccacaacc aucauggca aaaaugaggu guucugcgug 9540

gaccggcca aggggguaa gaaaccagcu cgccucaucg uuuacccuga ccucggcgc 9600  
cgguucugcg agaaaauggc ccucuaugac auuacacaaa agcuuccuca ggcgguaug 9660  
ggagcuuccu augccuucca guacuccccu gcccaacggg ugagauaucu cuugaaagca 9720  
ugggcggaaa agaaggaccc caugguuuu ucguauuga cccgaugcui cgacucaacc 9780  
gucacugaga gagacaucag gaccgaggag uccauauacc aggccugcuc ccugcccgag 9840  
gaggccccgca cugccauaca cucgcugacu gagagacuuu acguaggagg gcccauguuc 9900  
aacagcaagg gucaaaccug cgguuacaga cguugccgcf ccagcgggg gcuaaccacu 9960  
agcauggua acaccaucac augcuauug aaagccuag cggccugcaa ggcugcgggg 10020  
auaguugcgc ccacaaugcu gguaugcggc gaugaccuag uagucaucu agaaagccag 10080  
gggacugagg aggacgagcg gaaccugaga gccuucacgg aggccaugac cagguacucu 10140  
gcccccucug gugauccccc cagaccggaa uaugaccugg agcuauuaac auccuguucc 10200  
ucaaauugugu cuguggcguu gggcccgcg ggccgcccga gauacuaccu gaccagagac 10260  
ccaaccacuc cacucgcccgg ggcugccugg gaaacaguua gacacucccc uaucaauuca 10320  
uggcugggaa acaucaucca guaugcucca accauauggg uucgcauggu ccuaauugaca 10380  
cacuucuucu ccauucucau gguccaagac acccuggacc agaaccucaa cuuugagaug 10440  
uauggaucag uauacuccgu gaaucuuug gacciuuccag ccauaauuga gagguuacac 10500  
gggcuugacg ccuuuucuau gcacacauac ucucaccacg aacugacgcf gguggcuuca 10560  
gccucagaa aacuuggggc gccacccuc agggugugga agagucgggc ucgcgcaguc 10620  
agggcguccc ucaucucccg uggagggaaa gcggccguum gcggccgaua ucucuucaau 10680  
ugggcgguga agaccaagcu caaacucacu ccauugccgg aggcgcgccu acuggacuua 10740  
uccaguuggu ucaccgucgg cgccggcggg ggcgacauuu uucacagcgu gucgcgcgcc 10800  
cgaccccgcu cauacucuu cggccuacuc cuacuuuucg uagggguagg ccucuuccua 10860  
cuccccgcuc gguagagcgg cacacacuag guacacucca uagcuaacug uuccuuuuuu 10920  
uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuccucuuu 10980  
ciuuccuucu caucuuauuc uacuuuucuuu cuugguggcu ccaucuuagc ccaugucacg 11040  
gcuagcugug aaagguccgu gagccgcaug acugcagaga gugccguaac ugguccucu 11100  
gcagaucaug u 11111

<210> 14

<211> 11111

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: full-length Hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone, wherein an amino acid motif GDD has been mutated into GND

<400> 14

accugcccu aauagggcg acacuccgccc augaaucacu ccccugugag gAACUACUGU 60  
cuucacgcag aaagcgccua gccauggcgu uaguaugagu gucguacagc cuCCAGGCC 120  
cccccucccg ggagagccau aguggucugc ggaaccggug aguacaccgg aauugccggg 180  
aagacugggu ccuuucuugg auaaaccac ucuaugccg gccauuuggg c gugccccg 240  
caagacugcu agccgaguag cguuggguug cgaaaggccu ugugguacug c cugauaggg 300  
cgcuugcgag ugccccggga ggucucguag accgugcacc augagcacaa auccuaaacc 360  
ucaaagaaaa accaaaagaa acaccaaccg ucgccccaaug auugaacaag a uggauugca 420  
cgcagguucu ccggccgcuu ggguggagag gcuauucggc uaugacuggg c acaacagac 480  
aaucggcugc ucugaugccg ccguguuccg gcugucagcg cagggcgcc c gguucuuuu 540  
ugucaagacc gaccuguccg gugccugaa ugaacugcag gacgaggcag c gcggcuauc 600  
guggcuggcc acgacggcg iuccuugcgc agcugugcuc gacguuguca c ugaagcggg 660  
aaggacugg cugcuauugg gcgaagugcc gggcaggau cuccugucau c ucaccuugc 720  
uccugccgag aaaguaucca ucauggcuga ugcaaugcgg cggcugcaua c gcuugaucc 780  
ggcuaccugc ccauucgacc accaagcgaa acaucgcauc gagcgagcac guacucggau 840  
ggaagccggu cuugucgauc aggaugaucu ggacgaagag caucagggc u cgcgccagc 900  
cgaacuguuc gccaggcuca aggcgcgcau gcccgcacggc gaggaucucg u c gugaccca 960  
uggcgaugcc ugcuugccga auaucaggua ggaaauggc cgcuuuucug gauucaucga 1020  
cuguggccgg cugggugugg cggaccgcua ucaggacaua gctguuggcua c ccgugauau 1080

ugcugaagag cuuggcgccg aaugggcuga ccgcuuccuc gugcuuuacg guaucgccgc 1140  
ucccgauucg cagcgcaucg cciucuaucg cciucuugac gaguucuucu gaguuuuaac 1200  
ccucucccuc ccccccccu aacguuacug gccgaagccg cuuggaaaua ggcggugug 1260  
cguuugucua uauguuauuu uccaccauau ugccgucuuu ugccaugug agggcccgg 1320  
aaccuggccc ugucuucuug acgagcauuc cuaggggucu uuccccucuc gccaaaggaa 1380  
ugcaaggucu guugaauguc gugaaggaag caguuccucu ggaagcuucu ugaagacaaa 1440  
caacgucugu agcgaccuu ugcagggcagc ggaacccccc accuggcgac aggugccucu 1500  
gcggccaaaa gccacgugua uaagauacac cugcaaaggc ggcacaaccc cagugccacg 1560  
uugugaguug gauaguugug gaaagaguca aauggcucuc cucaagcgua uucaacaagg 1620  
ggcugaagga ugcccagaag guaccccauu guaugggauc ugaucugggg ccucggugca 1680  
caugcuuuac auguguuuaug ucgagguuaa aaaaacgucu aggcccccg aaccacgggg 1740  
acgugguuuu ccuuugaaaa acacgaugau accaugagca caaaucuaa accucaaaga 1800  
aaaaccaaaa gaaacaccaa ccgucgccc gaagacguua aguucccg 1860  
aucguuggcg gaguauacuu guugccgcgc agggcccca gguugggugu gcgcacgaca 1920  
aggaaaacuu cggagcgguc ccagccacgu gggagacgcc agcccauccc caaagaucgg 1980  
cgcuccacug gcaaggccug gggaaaacca ggucgccccu ggccccuaua uggaauag 2040  
ggacucggcu gggcaggaug gcuccugucc ccccgaggcu cucgccccuc cuggggcccc 2100  
acugacccccc ggcauagguc ggcacacgug gguaaaguca ucgacacccu aacguguggc 2160  
uuugccgacc ucauggggua cauccccguc guaggcgccc cgccuagugg cgccgccaga 2220  
gcugucgcgc acggcgugag aguccuggag gacggggua auuaugcaac aggaaaccua 2280  
cccgguiucc ccuuuucuau cuuciugcug gcccugugu ccugcaucac cguuccgguc 2340  
ucugcugccc aggugaagaa uaccaguagc agcuacaugg ugaccaauga cugcuccaa 2400  
gacagcauca cuuggcagcu cgaggcugcg guucuccacg ucccgggug cgucccgugc 2460  
gagagagugg ggaauacguc acgguguugg gugccagucu cgccaaacau ggcugugcgg 2520  
cagcccgug cccucacgca gggucugcgg acgcacaucg auauugguugu gauguccggc 2580  
accuucugcu cugcucucua cgugggggac cucuguggcg gggugaugcu cgccggccag 2640  
guguucaucg ucucgcccga guaccacugg uuugugcaag aaugcaauug cuccaucuac 2700  
ccuggcacca ucacuggaca ccgcauggca uggaacaua ugauaacug gucccccacg 2760  
gccaccauga uccuggcgua cgugaugcgc gucccccagg ucaucauaga caucguuagc 2820

ggggcucacu gggcgcuau guucggcuug gccuacuucu cuaugcaggg agcgugggcg 2880  
aaggucauug ucauccuucu gcuggccgcu ggggugggacg cgggcaccac caccguugga 2940  
ggcgcuguug cacguuccac caacgugauu gccggcgugu ucagccaugg cccucagcag 3000  
aacauucagc ucauuuacac caacggcagu uggcacauca accguacugc cuugaauugc 3060  
aaugacuccu ugaacacccgg cuuucucgcf gccuuguucu acaccaaccg cuuuaacucg 3120  
ucaggguguc cagggcgccu guccgcccugc cgcaacaucg aggcuuuccg gauagggugg 3180  
ggcacccuac aguacgagga uaaugucacc aauccagagg auauagaggcc guacugcugg 3240  
cacuaccccc caaagccgug ugugcguaguc cccgcgaggu cugugugugg cccaguguac 3300  
uguuuucaccc ccagcccggu aguagugggc acgaccgaca gacguggagu gcccaccuac 3360  
acauggggag agaaugagac agaugucuuc cuacugaaca gcacccgacc gccgcagggc 3420  
ucaugguucg gcugcacgug gaugaacucc acugguuuca ccaagacuug ugugcgcgcca 3480  
ccuugccgca ccagagcuga cuucaacgcc agcacggacu uguugugccc uacggauugu 3540  
uuuaggaagc auccugaugc cacuuauuu aagugugguu cugggcccug gcucacacca 3600  
aagugccugg uccacuaccc uuacagacuc uggcauuacc ccugcacagu caauuuuacc 3660  
aucuuaaga uaagaaugua uguagggggg guugagcaca ggcucacggc cgcaugcaac 3720  
uucacucgug gggaucgcug cgacuuggag gacagggaca ggagucagcu guuccucug 3780  
uugcacucua ccacggaaug ggc当地ccug cccugcaccu acucagacuu acccgcuuug 3840  
ucaacugguc uucuccaccu ucaccagaac aucguggacg uacaauacau guauggccuc 3900  
ucaccugcua ucacaaaaua cgucguucga ugugaguggg ugguacucuu auuccugcuc 3960  
uuagcggacg ccagagucug cggccugcuug uggaugcuca ucuuguuggg ccaggccgaa 4020  
gcagcauugg agaaguuggu cgucuugcac gcugcgagug cggcuaacug ccauggccuc 4080  
cuauuuuug ccaucuucuu cguggcagcu ugacacauca gggucgggu ggucccccug 4140  
accaccuuu gccucacugg ccuauggccc uucugccuac ugcucauggc acugccccgg 4200  
caggcuuauug ccuaugacgc accugugcac ggacagauag gcguggguuu guugauauug 4260  
aucacccucu ucacacucac cccgggguaau aagacccucc ucggccagug ucuguggugg 4320  
uugugcuauc uccugacccu gggggaagcc augauucagg aguggguacc acccaugcag 4380  
gugcgcggcg gccgcgaugg caucgcgugg gccgucacua uauucugccc ggguguggug 4440  
uuugacauua ccaauggcu uuuggcguug cuugggcccug cuuaccucuu aagggccgcu 4500  
uugacacaaug ugccguacuu cgucagagcu cacgcucuga uaaggguau cgcuuuggug 4560

aagcagcucg cggggggguag guauguucag guggcgcuau ugcccugg cagguggacu 4620  
ggcaccuaca ucuaugacca ccucacaccu augucggacu gggccgcuag cggccugcgc 4680  
gacuuagcgg ucgccgugga acccaucauc uucaguccga uggagaagaa ggucaucguc 4740  
uggggagcgg agacggcugc auguggggac auucuacaug gaciuuccgu guccgcccga 4800  
cucggccagg agauccuccu cggcccagcu gauggcuaca ccuccaaggg guggaagcuc 4860  
cuugcuccca ucacugcuua ugcccagcaa acacgaggcc uccugggcgc cauaguggug 4920  
aguaugacgg ggcgugacag gacagaacag gccggggaaag uccaaaucu guccacaguc 4980  
ucucaguccu uccucggaac aaccaucug ggguuuugu ggacuguuua ccacggagcu 5040  
ggcaacaaga cucuagccgg cuuacgggu ccggucacgc agauguacuc gagugcugag 5100  
ggggacuugg uaggcuggcc cagccccu gggaccaagu cuuuggagcc gugcaagugu 5160  
ggagccgucg accuauaucu gguacacgcgg aacgcugaug ucaucccggc ucggagacgc 5220  
ggggacaagc ggggagcauu gcucucccg agacccauuu cgaccuugaa ggguccucg 5280  
ggggggccgg ugcucugccc uaggggccac gucguugggc ucuuccgagc agcugugugc 5340  
ucucggggcg uggccaaauc caucgauuuc auccccguug agacacucga cguuguuaca 5400  
aggucuccca cuuucaguga caacagcacg ccaccggcug ugccccagac cuaucagguc 5460  
ggguacuugc augcuccaac uggcagugga aagagcacca agguccugu cgcguaugcc 5520  
gcccaggggu acaaaguacu agugcuuaac cccucgguag cugccacccu ggguuuggg 5580  
gcguaccuau ccaaggcaca uggcaucaau cccaacauua ggacuggagu caggaccgug 5640  
augaccgggg aggccaucac guacuccaca uauggcaaau uucucgccga ugffffcugc 5700  
gcuagcggcg ccuaugacau caucauagc gaugaaugcc acgcugugga ugcuaccucc 5760  
auucucggca ucggaacggu cciugaucaa gcagagacag cggggucag acuaacugug 5820  
cuggcuacgg ccacacccccc cggucagug acaacccccc aucccgauau agaagaggua 5880  
ggccucgggc gggaggguga gaucccuuc uaugggaggg cgauucccu auccugcauc 5940  
aaggagggga gacaccugau uuucugccac ucaaagaaaa agugugacga gcucgcggcg 6000  
gccciucggg gcaugggcui gaaugccgug gcauacuaua gaggguugga cgucuccaua 6060  
auaccagcuc agggagaaugu gguggucguc gccaccgacg cccucaugac gggguacacu 6120  
ggagacuuug acuccgugau cgacugcaau guagcgguca cccaaacugu cgaciuucagc 6180  
cuggacccca cciucacuau aaccacacag acugucccac aagacgcugu cucacgcagu 6240  
cagcgccgcg ggcgcacagg uagaggaaga cagggcacuu auagguauu uuccacuggu 6300

gaacgagccu caggaauuu ugacagugua gugcuuugug agugcuacga cgcagggcu 6360  
gcgugguacg aucucacacc agcggagacc accguucaggc uuagagcgua uuucaacacg 6420  
cccggccuac ccguguguca agaccaucuu gaauuuuggg aggcauuuu caccggccuc 6480  
acacacauag acgcccacuu ccucuccaa acaaagcaag cgggggagaa cuucgcguac 6540  
cuaguagccu accaagcuac ggugugcgcc agagccaagg cccuccccc guccugggac 6600  
gccaugugga agugccuggc ccgacucaag ccuacgcuug cggccccac accucuccug 6660  
uaccguuugg gcccuaauac caaugagguc accucacac acccugggac gaaguacauc 6720  
gccacaugca ugcaagcuga cnuugagguc augaccagca cguggguccu agcuggagga 6780  
guccuggcag ccgucgccc auauugccug gcgacuggau gcguuuccau caucggccgc 6840  
uugcacguca accagcgagu cgucguugcg ccggauaagg agguccugua ugaggcuuuu 6900  
gaugagaugg agaaugcgc cnuuaggcgc gcucucaucg aagagggca gggauagcc 6960  
gagauguuga aguccaagau ccaaggcuug cugcagcagg ccucuaagca ggcccaggac 7020  
auacaacccg cuaugcaggc uucauggccc aaaguggaac aauuuugggc cagacacaug 7080  
uggaacuuca uuagcggcau ccaauaccuc gcaggauugu caacacugcc aggaaacccc 7140  
gcgguggcuu ccaugauuggc auucagugcc gcccucacca guccguuguc gaccaguacc 7200  
accauccuuc ucaacaucau gggagggcugg uuagcguccc agaucgcacc acccgcgaaa 7260  
gccaccggcu uugucguucag ugcccuggug gggcugccg ugcccagcau aggccugggu 7320  
aaggugcugg ugacauccu ggcaggauau ggugcgggca uuucggggc ccucguugca 7380  
uucaagaauca ugucuggcga gaagcccucu auggaagaug ucaucaaucu acugccuggg 7440  
auccugucuc cgggagccu gguggugggg guaucugcg cggccauucu gggccggccac 7500  
gugggaccgg gggagggcgc gguccaugg augaacaggc uuauugccuu ugciuccaga 7560  
ggaaaccacg ucgccccuac ucacuacug acggagucgg augcguugca gcgugugacc 7620  
caacuacuug gcucucuuac uauaaccagc cuacucagaa gacuccacaa uggauaacu 7680  
gaggacugcc ccaucccaug cuccggaucc ugcccugccg acguguggga cuggguuugc 7740  
accaucuuga cagacuucaa aaauuggcug accucuaau uguuccccaa gcugccggc 7800  
cucccuuca ucucuuguca aaaggguac aaggugugu gggccggcac uggcaucaug 7860  
accacgcgcu gccuugcgg cgccaaacau ucuggcaaug uccggcuggg cucuaugagg 7920  
aucacagggc cuaaaaccug caugaacacc ugcccaggga ccuuiuccau caauugcuac 7980  
acggagggcc agugcgcgc gaaacccccc acgaacuaca agaccgcacu cuggagggug 8040

gcggccucgg aguacgcgga ggugacgcag caugggucgu acuccuaugu aacaggacug 8100  
accacugaca aucugaaaau uccuugccaa cuaccuucuc cagaguuuuu cuccugggug 8160  
gacggugugc agauccauag guuugcaccc acaccaaagc cguuuuuucgg ggaugagguc 8220  
ucguucugcg uugggcuuua uuccuaugcu gucggguccc agciuuccug ugaaccugag 8280  
cccgacgcag acguauugag guccaugcua acagauccgc cccacaucac ggcggagacu 8340  
gcggcgccgc gcuuggcacf gggauccaccu ccaucugagg cgagcuccuc agugagccag 8400  
cuauacagcac cgucgcugcg ggccaccugc accacccaca gcaacaccua ugacguggac 8460  
auggucgaug ccaaccugcu cauggagggc gguguggcuc agacagagcc ugaguccagg 8520  
gugcccguiuc uggacuuuucu cgagccaaug gccgaggaag agagcgaccu ugagcccuca 8580  
auaccaucgg agugcaugcu ccccaggagc ggguuuccac gggccuuacc ggcuugggca 8640  
cgccugacu acaacccgcc gcucguggaa ucguggagga ggccagauua ccaaccgccc 8700  
accguugcug guugugcucu cccccccccc aagaaggccc cgacgccucc ccaaggaga 8760  
cgccggacag ugugcugag cgagagcacc auaucagaag cccuccagca acuggccauc 8820  
aagaccuuug gccagccccc cucgagcggu gaugcaggcu cguccacggg ggccggcgcc 8880  
gccgaaucgg gcgguccgac gucccccuggu gagccggccc ccucagagac agguuccgccc 8940  
uccucuaugc cccccucga gggggagccu ggagauccgg accuggaguc ugaucaggua 9000  
gagcuucaac cucccccac ggggggggg guagcucccg guucggcuc ggggucuugg 9060  
ucuacuugcu ccgaggagga cgauaccacc gugugcugcu ccaugucaua cuccuggacc 9120  
ggggcucuaa uaacuccug uagcccgaa gagaaaaagu ugccaaucaa cccuuugagu 9180  
aacucgcugu ugcgauacca uaacaaggug uacuguacaa caucaaagag cgccucacag 9240  
aggcuaaaa agguaacuuu ugacaggacg caagugcucg acgcccuauc ugacucaguc 9300  
uuaaggaca ucaagcuagc ggcuuccaaag gucagcgcaa ggcuccucac cuuggaggag 9360  
gcgugccagu ugacuccacc ccauucugca agauccaagu auggauucgg ggccaaggag 9420  
guccgcagcu uguccggag ggccguuaac cacaucaagu ccguguggaa ggaccuccug 9480  
gaagacccac aaacaccaau ucccacaacc aucauggca aaaaugaggu guucugcgug 9540  
gaccccgcca aggggguaa gaaaccagcu cgccucaucg uuuaaccuga ccucggcguc 9600  
cgggucugcg agaaaauggc ccucuaugac auuacacaaa agciuuccuca ggcgguaaug 9660  
ggagcuuccu auggcuucca guacuccccu gcccaacggg ugaguaucu cuugaaagca 9720  
ugggcggaaa agaaggaccc cauggguuuu ucguaugaua cccgaugcui cgacucaacc 9780

gucacugaga gagacaucag gaccgaggag uccauauacc aggccugcuc ccugcccgag 9840  
gaggcccgca cugccauaca cucgcugacu gagagacuuu acguaggagg gcccauguuc 9900  
aacagcaagg gucaaaccug cgguuacaga cguugccgag ccagcggggu gcuaaccacu 9960  
agcauggua acaccaucac augcuauugug aaagccuag cggccugcaa ggcugcgggg 10020  
auaguugcgc ccacaaugcu gguauugccgc aaugaccuag uagucaucuc agaaagccag 10080  
gggacugagg aggacgagcg gaaccugaga gccuucacgg aggccaugac cagguacucu 10140  
gccccuccug gugaucccc cagaccggaa uaugaccugg agcuaauaac auccuguucc 10200  
ucaaaugugu cuguggcguu gggcccgcg ggccgcccga gauacuaccu gaccagagac 10260  
ccaaccacuc cacucgcccc ggcugccugg gaaacaguua gacacucccc uaucaauuca 10320  
uggcugggaa acaucaucca guaucucca accauauggg uucgcauggu ccuaaugaca 10380  
caciuucuucu ccauucucau gguccaagac acccugggacc agaaccucaa cuuugagaug 10440  
uauggaucag uauacuccgu gaaucuuug gaccuuccag ccauaauuga gagguuacac 10500  
gggcuugacg ccuuuucuau gcacacauac ucucaccacg aacugacgag gguggcuuca 10560  
gccucagaa aacuuggggc gccacccuc agggugugga agagucgggc ucgcgcaguc 10620  
agggcguccc ucaucucccg uggagggaaa gcggccguuu gcggccgaua ucucuucaau 10680  
ugggcgguga agaccaagcu caaacucacu ccauugccgg aggcgcgccc acuggacuua 10740  
uccaguuggu ucaccgucgg cgccggcggg ggcgacauuu uucacagcgu gucgcgccc 10800  
cgaccccgcu cauuacucuu cggccuacuc cuacuuuucg uagggguagg ccucuuccua 10860  
cuccccgcuc gguagagcgg cacacacuag guacacucca uagcuaacug uuccuuuuu 10920  
uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuccucuuu 10980  
cuuccciucu caucuuauuc uacuuucuuu cuugguggcu ccaucuuagc ccuagucacg 11040  
gcuagcugug aaaggguccgu gagccgcaug acugcagaga gugccguaac ugguccucu 11100  
gcagaucaug u 11111

<210> 15

<211> 9707

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: replicon RNA comprising full-length Hepatitis C virus genomic RNA derived from JFH-1 clone, wherein an amino acid motif GDD has been mutated into GND

<400> 15

gaauucuaau acgacucacu auagaccugc cccuaauagg ggcgacacuc cgccaugaa 60  
cacuccccug ugaggaacua cugucuucac gcagaaagcg ccuagccaug gcguuaguau 120  
gagugucgua cagccuccag gccccccu cccgggagag ccauaguggu cugcggaacc 180  
ggugaguaca ccggaaauugc cgggaagacu ggguccuuuc uuggauaaac ccacucuaug 240  
cccggccauu ugwgcgugcc cccgcaagac ugcuagccga guagcguugg guugcgaaag 300  
gccuuguggu acugccugau agggcgcuug cgagugcccc gggaggucuc guagaccgug 360  
caccaugagc acaaauccua aaccucaaag aaaaaccaaa agaaacacca accgucgccc 420  
agaagacguu aaguucccg gggcgccca gaucguuggc ggaguauacu uguugccgcf 480  
caggggcccc agguugggug ugcgcacgac aaggaaaacu ucggagcggu cccagccacg 540  
ugggagacgc cagcccaucc ccaaagaucg gcgcuccacu ggcaaggccu gggaaaacc 600  
aggucgcccc ugccccauu augggaauga gggacucggc ugwgaggau ggcuccuguc 660  
cccccgaggc ucucgccccu ccuggggccc cacugacccc cggcauaggu cgcgcaacgu 720  
gguaaaguc aucgacaccc uaacgugugg cuuugccgac cucauggggu acauccccgu 780  
cguaggcgcc ccgcuuagug ggcggccag agcugucgcg cacggcguga gaguccugga 840  
ggacgggguu aauuaugcaa cagggaaaccu acccgguuuc cccuuuucua uciucuugcu 900  
ggccuguug uccugcauca ccguuccggu cucugcugcc caggugaaga auaccaguag 960  
cagcuacaug gugaccaaag acugcuccaa ugacagcauc acuuggcagc ucgaggcugc 1020  
guucuccac gucccggu ggcucccgug cgagagagug gggaaauacgu cacgguguug 1080  
ggugccaguc ugccaaaca ugugugugcg gcagcccggu gcccucacgc agggucugcg 1140  
gacgcacauc gauaugguug ugauguccgc caccuucugc ucugcucu acguggggga 1200  
ccucuguggc gggugugac ugcggccca gguguucauc gucucgccgc aguaccacug 1260  
guuugugcaa gaaugcauu gcuccaucua cccuggcacc aucacuggac accgcauggc 1320

augggacaug augaugaacu ggucgcccac ggccaccaug auccuggcgu acgugaugcg 1380  
cguccccgag gucaucauag acaucguuag cggggcucac ugffffcguca uguucggcuu 1440  
ggccuacuuc ucuaugcagg gagcgugggc gaaggucuu gucauccuuc ugcuggccgc 1500  
ugggguggac gcgggcacca ccaccguugg aggcgcuguu gcacguucca ccaacgugau 1560  
ugccggcgug uucagccaug gcccucagca gaacauucag cuauuaaca ccaacggcag 1620  
uuggcacauc aaccguacug cciugaaauug caaugacucc uugaacacccg gciuucucgc 1680  
ggccuuguuc uacaccaacc gcuuuuacuc gucagggugu ccagggcgcc uguccggcug 1740  
ccgcaacauc gaggcuiucc ggauagggug gggcacccua caguacgagg auuauugucac 1800  
caauccagag gauaugagggc cguacugcug gcacuacccc ccaaagccgu guggcguagu 1860  
cccccgagg ucugugugug gcccagugua cuguuucacc cccagcccg uaguaguggg 1920  
cacgaccgac agacguggag ugcccaccua cacaugggga gagaauugaga cagaugucuu 1980  
ccuacugaac agcacccgac cgccgcaggg cucaugguuc ggcugcacgu ggaugaacuc 2040  
cacugguuuc accaagacuu guggcgcgcc accuugccgc accagagcug acuuaacgc 2100  
cagcacggac uuguugugcc cuacggauug uuuuaggaag cauccugau ccacuuauau 2160  
uaaguguggu ucugggccc ggcucacacc aaagugccug guccacuacc cuuacagacu 2220  
cuggcauuac cccugcacag ucaauuuuac caucucaag auuagaauu auuaggggg 2280  
gguugagcac aggcucacgg ccgcaugcaa ciucacucgu gggauucgu ggcacuugga 2340  
ggacagggac aggagucagc ugucuccucu guugcacucu accacggaa gggccaucc 2400  
gccugcacc uacucagacu uacccgcuuu gucaacuggu ciucuccacc uucaccagaa 2460  
caucguggac guacaauaca uguauuggccu cucaccugc aucacaaaau acgucguucg 2520  
augggagugg gugguacucu uauuccugcu cuuagcggac gccagagucu ggcugcguu 2580  
guggaugcuc aucuuguugg gccaggccga agcagcauug gagaaguugg ucgucuugca 2640  
cgugcgcagu gcccuaacu gccauggccu ccuaauuuu gccaucuuc ucguggcagc 2700  
uuggcacauc agggucggg ugguccuuu gaccaccuaug ugcccucacug gccauggcc 2760  
ciucugccua cugcucaugg cacugccccg gcaggcuuau gccaugacg caccugugca 2820  
cgacagaua ggcguggguu uguugauuuu gucacccuc uucacacuca cccggggua 2880  
uaagacccuc cucggccagu gucuguggug guugugcuau cuccugaccc ugffffaagc 2940  
caugauucag gaguggguac caccaugca ggugcgccggc ggccgcgaug gcaucgcgug 3000  
ggccgucacu auauucugcc cggugugguu guuugacauu accaaauggc uuuuggcguu 3060

gcuugggccu gcuuaccucu uaagggccgc uuugacacau gugccguacu ucgucagagc 3120  
ucacgcucug auaaggguau gcgcuuuggu gaagcagcuc gcggggggua gguauguuca 3180  
gguggcgcua uuggccuug gcagguggac ugacaccuac aucuaugacc accucacacc 3240  
uaugucggac ugcccgcua gcggccugcg cgacuuagcg guccgcgugg aacccaucau 3300  
cuucaguccg auggagaaga aggucaucgu cugggagcg gagacggcug caugugggga 3360  
cauucuacau ggaciuccccg uguccgccccg acucggccag gagauccucc ucggcccagc 3420  
ugauggcuac accuccaagg gguggaagcu cciugcuccc aucacugcuu augcccagca 3480  
aacacgaggc cuccuggcg ccauaguggu gaguaugacg gggcgugaca ggacagaaca 3540  
ggccggggaa guccaaaucc uguccacagu cucucagucc uuccucggaa caaccaucuc 3600  
ggggguuuug ugacuguuu accacggagc uggcaacaag acucuagccg gcuuacgggg 3660  
uccggucacg cagauguacu cgagugcuga ggggacuug guaggcuggc ccagcccccc 3720  
ugggaccaag ucuuuggagc cgugcaagug ugagccguc gaccuauauc ugucacgcg 3780  
gaacgcugau gucaucccg cucggagacg cggggacaag cggggagcau ugcucucccc 3840  
gagacctcauu ucgaccuuga agggguccuc gggggggccg gugcucugcc cuaggggcca 3900  
cgucguuggg cuciuccagc cagcugugug cucucggggc guggccaaau ccaucgauuu 3960  
cauccccguu gagacacucg acguuguuac aaggucuccc acuuucagug acaacagcac 4020  
gccaccggcu gugccccaga ccuaucaggu cggguacuug caugcuccaa cuggcagugg 4080  
aaagagcacc aagguccug ucgcguaugc cgcccagggg uacaaaguac uagugcuuua 4140  
ccccucggua gcugccaccc ugggguuugg ggcguaccua uccaaggcac auggcaucaa 4200  
ucccaacauu aggacuggag ucaggaccgu gaugaccggg gaggccauca cguacuccac 4260  
auauggcaaa uuucucgccc augggggcug cgcuagcggc gccuaugaca ucaucauaug 4320  
cgaugaaugc cacgcugugg augcuaccuc cauucucggc aucggAACGG uccuugauca 4380  
agcagagaca gccgggguca gacuaacugu gcuggcuacg gccacacccc cggggucagu 4440  
gacaacccccc caucccgaua uagaagaggu aggccucggg cgggagggug agauccccc 4500  
cuauuggagg gcgauuccccc uauccugcau caagggaggg agacaccuga uuuucugcca 4560  
cucaaagaaa aagugugacg agcucgcggc ggccuucgg ggcaugggcu ugaaugccgu 4620  
ggcauacuau agaggguugg acgucuccau aauaccagcu cagggagaaug ugugggucgu 4680  
cgccaccgac gcccucauga cgggguacac ugagacuuu gacuccguga ucgacugcaa 4740  
uguagcgguc acccaagcug ucgacuucag ccuggacccc accuucacua uaaccacaca 4800

gacuguccca caagacgcug ucucacgcag ucagcgccgc gggcgcacag guagaggaag 4860  
acagggcacu uauagguau guuuccacugg ugaacgagcc ucagggaaugu uugacagugu 4920  
agugcUUUGU gagugcuacg acgcaggGGC ugcgugguac gaucucacac cagcggagac 4980  
caccgucagg cuuagagcgu auuuacaacac gcccgGCCua CCCGUGUGUC aagaccaaucu 5040  
ugaauuuugg gaggcaguuu ucaccggccu cacacacaua gacgcccacu uccucucca 5100  
aacaaagcaa gcgggggaga aciuucgcgu a cguaguagcc uaccaagcua cggugugcgc 5160  
cagagccaag gcccccucccc cguccuggga cgccaugugg aagugccugg cccgacucaa 5220  
gccuacgcuu gcgggccccca caccucuccu guaccguuug ggccuauua ccaaugaggu 5280  
caccucaca cacccuggga cgaaguacau cgccacaua augcaagcug accuugaggu 5340  
caugaccagc acgugggucc uagcuggagg aguccuggca gccgucgccc cauauugccu 5400  
ggcgacugga ugcguuuucca ucaucggccg cuugcacguc aaccagcgag ucgucguugc 5460  
gccggauaag gagguccugu augaggcuuu ugaugagaug gaggaugcgc ccucuagggc 5520  
ggcucucauc gaagaggggc agcggauagc cgagauguug aaguccaaga uccaaggccu 5580  
gcugcagcag gccucuaagc aggcccagga cauacaaccc gcuaugcagg cuucauggcc 5640  
caaaguggaa caauuuuggg ccagacacau guggaaciuc auuagcggca uccaaauaccu 5700  
cgcaggauug ucaacacugc cagggAACCC cgcgguggcu uc当地uguggaugg cauucagugc 5760  
cgcccucacc aguccguugu cgaccaguac caccauccuu cuacaaca ugaggaggcug 5820  
guuagcgucc cagaucgcac cacccgcggg ggccaccggc uuugucguca guggccuggu 5880  
ggggcugcc gugggcagca uaggccuggg uaaggugcug guggacaucc uggcaggaua 5940  
uggugcgggc auuucggggg cccucgucgc auucaagauc augucuggcgc agaagcccuc 6000  
uauggaagau gucaucaauc uacugccugg gauccugucu ccgggagccc uguggugggg 6060  
ggucaucugc gcccacauuc ugcgcggcca cgugggaccg ggggagggcgc cgguccaaug 6120  
gaugaacagg cuuauugccu uugcuuccag agggaaaccac gucccccua cucacuacgu 6180  
gacggagucg gaugcguucgc agcgugugac ccaacuacuu ggcucucuuua cuuaaccag 6240  
ccuacucaga agacuccaca auuggauaac ugaggacugc cccauccau gucccggauc 6300  
cuggcuccgc gacguguggg acuggguug caccaucuug acagacuuca aaaauuggcu 6360  
gaccucuaaa uuguuuccca agcugccgg ccuuccciuc aucucuuguc aaaagggua 6420  
caagggugug ugcccggca cuggcauau gaccacgcgc ugcccugcgc ggcacaacau 6480  
cucuggcaau guccgcccugg gcucuaugag gaucacaggg ccuaaaaccu gcaugaacac 6540

cuggcagggg accuuuccua ucaaauugcua cacggagggc cagugcgcgc cgaaacccccc 6600  
cacgaacuac aagaccggca ucuggagggu ggcggccucg gaguacgcgg aggugacgca 6660  
gcaugggucg uacuccuaug uaacaggacu gaccacugac aaucugaaaa uuccuugcca 6720  
acuaccuucu ccagaguuuu ucuccugggu ggacggugug cagauccaua gguuugcacc 6780  
cacaccaaag ccguuuuucc gggaugaggu cucguucugc guugggcuua auuccuaugc 6840  
ugucgggucc cagciuccu gugaaccuga gcccgacgca gacguauuga gguccaugcu 6900  
aacagauccg ccccacauca cggcgagac ugcggcgcgg cgcuuggcac gggaucacc 6960  
uccaucugag gcgagcuccu cagugagcca gcuaucagca ccgucgcugc gggccaccug 7020  
caccacccac agcaacaccu augacgugga cauggucgau gccaaccugc ucauggaggg 7080  
cgugugggcu cagacagagc cugaguccag ggugcccggu cuggacuuuc ucgagccaa 7140  
ggccgaggaa gagagcgacc uugagcccuc aauaccaucg gagugcaugc uccccaggag 7200  
cgguuuucca cgggccuuac cggcuugggc acggccugac uacaaccgc cgcucgugga 7260  
aucguggagg aggccagauu accaaccgc caccguugcu gguugugcuc ucccccccc 7320  
caagaaggcc cgcacgcuc ccccaaggag acgcccggaca guggucuga gcgagagcac 7380  
cauaucagaa gcccuccagc aacuggccau caagaccuuu ggccagcccc ccucgagcgg 7440  
ugaugcaggg ucguccacgg gggcgggcgc cgccgaaucc ggcgguccga cgucccccugg 7500  
ugagccggcc cccucagaga cagguuccgc cuccucuaug cccccccucg agggggagcc 7560  
uggagauccg gaccuggagu cugaucaggu agagcuucaa ccucccccc agggggggggg 7620  
gguagcuccc gguucgggcu cggggucuug gucuacuugc uccgaggagg acgauaccac 7680  
cgugugcugc uc当地gucau acuccuggac cggggcucua auaacuccu guagccccga 7740  
agagggaaaag uugccaaucu accuuuugag uaacucgcug uugcgauacc auaacaagg 7800  
guacuguaca acaucaaaga ggcgcucaca gagggcuaaa aagguaacuu uugacaggac 7860  
gcaagugcuc gacgcccattt augacucagu cuuuaaggac aucaagcuag cggcuuccaa 7920  
ggucagcgca aggcuccuca cnuuggagga ggcgugccag uugacuccac cccauucugc 7980  
aagauccaaag uauggauucg gggccaagga gguccgcagc uuguccggga gggccguuua 8040  
ccacaucaag uc当地gugugga aggaccuccu ggaagaccca caaacaccaa uucccacaac 8100  
caucauggcc aaaaugagg uguucugcgu ggaccccgcc aaggggggua agaaaccagc 8160  
ucgccucauc guuuacccug accucggcgu cggggucugc gagaaaaugg cccucuauga 8220  
cauuacacaa aagcuuccuc aggcgguauu gggagcuucc uauggcuucc aguacucccc 8280

ugcccaacgg guggaguauc ucuugaaagc augggcggaa aagaaggacc ccauggguuu 8340  
uucguaugau acccgaugcu ucgacucaac cgucacugag agagacauca ggaccgagga 8400  
guccauauac cagggcugcu cccugcccga ggaggcccgc acugccauac acucgcugac 8460  
ugagagacuu uacguaggag ggccc augguu caacagcaag ggucaaaccu gcgguuacag 8520  
acguugccgc gccagcgaaa ugcuaaccac uagcauggu aacaccauca caugcuaugu 8580  
gaaagccua gcggccugca aggugcgaaa gauaguugcg cccacaaugc ugguaugcgg 8640  
caaugaccua guagucaucu cagaaagcca gggacugag gaggacgagc ggaaccugag 8700  
agccuucacg gaggccauga ccagguacuc ugccccuccu ggugauccccc ccagaccgga 8760  
auaugaccug gagcuaauaa cauccuguuc cucaauggug ucuguggcgu ugcccgcg 8820  
ggccgcgcg agauacuacc ugaccagaga cccacccacu ccacucgcgg gggcugccug 8880  
ggaaacaguu agacacuccc cuaucaauuc auggcuggga aacaucaucc aguaugcucc 8940  
aaccuaugg guucgcaugg uccuaaugac acaciuuuc uccauucuca ugguccaaga 9000  
caccuggac cagaaccuca acuuugagau guauggauca guauacuccg ugaaucuuu 9060  
ggacciucca gccaauauug agagguuaca cggcuugac gccuuuucua ugcacacaua 9120  
cucucaccac gaacugacgc ggguggcuuc agccucaga aaacuugggg cgccacccu 9180  
cagggugugg aagagucggg cucgcgcagu cagggcgccc cuaucuccc guggagggaa 9240  
agcgccgguu ugcccccgau aucuuucaa uuggcggug aagaccaagc ucaaacucac 9300  
uccauugccg gaggcgccgc uacuggacuu auccaguugg uucaccguug gcgcggcgg 9360  
ggcgacauu uuucacagcg ugucgcgcgc ccgacccgc ucauuacuca ucggccuacu 9420  
ccuacuuuuc guagggguag gccucuuuccu acuccccgcu cggugagcg gcacacacua 9480  
gguacacucc auagcuaacu guuccuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu 9540  
uuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuccuuc ucuuuccuuc ucaucuuauu cuacuuucuu 9600  
ucuugguggc uccaucuuag cccuagucac ggcuagcugu gaaagguccg ugagccgcau 9660  
gacugcagag agugccguaa cuggucucuc ugcagaucau gucuaga 9707

&lt;210&gt; 16

&lt;211&gt; 17

&lt;212&gt; DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 16

cgggagagcc atagtgg

17

<210> 17

<211> 19

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 17

agtaccacaa ggcccttcg

19

<210> 18

<211> 21

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 18

ctgcggaacc ggtgagtaca c

21

<210> 19

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 19

aacaagatgg attgcacgca

20

<210> 20

<211> 20

<212> DNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence:primer

<400> 20

cgtcaagaag gcgatagaag

20

<210> 21

<211> 11969

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: replicon RNA derived from the expression vector rFGR-JFH1/Luc

<400> 21

accugccccu aauagggcg acacuccgcu augaaucacu cccugugag gaacuacugu 60  
cuucacgcag aaagcgccua gccauggcgu uaguaugagu gucguacagc cuccaggccc 120  
ccccucccg ggagagccau aguggucugc ggaaccggug aguacaccgg aauugccggg 180  
aagacugggu ccuuucuugg auaaacccac ucuaugcccg gccauuuggg cgugccccg 240  
caagacugcu agccgaguag cguuggguug cgaaaggccu ugugguacug ccugauaggg 300  
cgcuugcgag ugccccggga ggucucguag accgugcacc augagcacaa auccuaaacc 360  
ucaaagaaaa accaaaagaa acaccaaccg acgcguuaug gaagacgcca aaaacauaaa 420  
gaaaggcccg gcgc当地 uccucugga ggauggaacc gcuggagagc aacugcauaa 480  
ggcuaugaag agauacgccc ugguuccugg aacaauugcu uuacagaug cacauaucga 540  
ggugaacauc acguacgcgg aauacuucga aauguccguu cgguuggcag agcuaugaa 600  
acgauauggg cugaauacaa aucacagaau cgucguauugc agugaaaacu cucuucaauu 660  
cuuuaugccg guguuggcg cguuauuuau cggaguugca guugcgcccg cgaacgacau 720  
uuauaaugaa cgugaaauugc ucaacaguau gaacauuucg cagccuaccg uaguguuugu 780  
uuccaaaaag ggguugcaaa aaauuuugaa cgugcaaaaa aaauuaccaa uaaucagaa 840  
aaauauuauc auggauucua aaacggauua ccagggauuu cagucgaugu acacguucgu 900  
cacaucuau cuaccucccg guuuuauga auacgauuuu guaccagagu ccuuugaucg 960  
ugacaaaaca auugcacuga uaaugaacuc cucuggaucu acuggguuac cuaaggugu 1020  
ggccciuccg cauagaacug ccugcgcugag auucucgcau gccagagaua cuauuuugg 1080  
caaucaaauc auuccggaua cugcgauuuu aaguguuguu ccauuccauc acgguuuugg 1140  
aauguuuacu acacucggau auuugauaug uggaauuucga gucguuuua uguauagauu 1200

ugaagaagag cuguuuuuac gauccuuca ggauuacaaa auucaaagug cguugcuagu 1260  
accaaccua uuuucauucu ucgccaaaag cacucugauu gacaaauacg auuuaucuaa 1320  
uuuacacgaa auugcuucug ggggcgcacc ucuuucgaaa gaagucgggg aagcgguugc 1380  
aaaacgcuuc caucuuccag ggauacgaca aggauauggg cucacugaga cuacaucagc 1440  
uauucugauu acacccgagg gggaugaua accggcgcg gucguaaag uuguuccauu 1500  
uuuugaagcg aagguugugg aucuggauac cggaaaaacg cugggcguua aucagagagg 1560  
cgaaauuaugu gucagaggac cuaugauuau guccgguuau guaaacaauc cggaagcgac 1620  
caacgccuug auugacaagg auggauggcu acauucugga gacauagcuu acugggacga 1680  
agacgaacac uucuucauag uugaccgcuu gaagucuuua auuaauaca aaggauauca 1740  
gguggcccc gcugaaauugg aaucgauauu guuacaacac cccaacauu ucgacgcgg 1800  
cguggcaggu cucccgacg augacgccgg ugaacuuccc gccgcccguug uuguuuugga 1860  
gcacggaaag acgaugacgg aaaaagagau cguggauuac gugccaguc aaguaacaac 1920  
cgcgaaaaag uugcgcgag gaguuguguu uguggacgaa guaccgaaag gcuuaccgg 1980  
aaaacucgac gcaagaaaaa ucagagagau ccucauaag gccagaagg gcggaaaguc 2040  
caaauuguaa guuuuaaccc ucuccuccc ccccccuuaa cguuacuggc cgaagccgcu 2100  
uggaauaagg ccggugugcg uuugucuua uguuauuuuc caccauauug ccgucuuuug 2160  
gcaaugugag ggcccgaaa ccuggccug uciucuugac gagcauuccu agggucuuu 2220  
ccccucucgc caagggaaug caaggucugu ugaauugucgu gaaggaagca guuccucugg 2280  
aagcuucuug aagacaaaca acgucuguag cgaccuuug caggcagcgg aaccccccac 2340  
cuggcgacag gugccucugc ggccaaaagc cacguguaua agauacaccu gcaaaggcgg 2400  
cacaacccca gugccacguu gugaguugga uaguugugga aagagucaa uggcucuccu 2460  
caagcguauu caacaagggg cugaaggaug cccagaaggu accccauugu augggaucug 2520  
aucuggggcc ucggugcaca ugcuuuacau guguuaguc gagguaaaaaa aaacgucuag 2580  
gccccccgaa ccacggggac gugguuuucc uuugaaaaac acgaugauac caugagcaca 2640  
aauccuaaac cucaaagaaa aaccaaaga aacaccaacc gucccaga agacguuaag 2700  
uucccgggcg gcggccagau cguuggcgga guauacuugu ugccgcgcag gggccccagg 2760  
uugggugugc gcacgacaag gaaaacuucg gagcgguccc agccacgugg gagacgccag 2820  
cccauacccca aagaucggcg cuccacuggc aaggccuggg gaaaaccagg ucgccccugg 2880  
ccccuauaug ggaauugaggg acucggcugg gcaggauggc uccuguccc cgaggcucu 2940

cgccccuccu ggggccccac ugaccccccgg cauaggucgc gcaacguggg uaaagucauc 3000  
gacaccuaa cguguggcuu ugccgaccuc auggguaca ucccgucgu aggcgccccg 3060  
cuuaguggcg ccgccagagc ugucgcgcac ggcgugagag uccuggagga cgggguaau 3120  
uaugcaacag ggaaccuacc cgguuucccc uuuucuaucu ucuugcuggc ccuguugucc 3180  
ugcaucaccg uccggucuc ugcugcccag gugaagaaua ccaguagcag cuacauggug 3240  
accaa augacu gcuccaauga cagcaucacu ugcaugcuc aggcugcgg ucuuccacguc 3300  
cccgugcg ucggugcg aagagugggg aauacgucac gguguugggu gccagucucg 3360  
ccaaacaugg cugugcggca gcccggugcc cucacgcagg gucugcggac gcacaucgau 3420  
augguuguga ugucggccac cuucugcucu gcucucuacg ugaaaaaccu cuguggcggg 3480  
gugaugcuc cggcccaggu guucaucguc ugcgcgcagu accacugguu ugugcaagaa 3540  
ugcaauugcu ccaucuaccc ugacaccauc acuggacacc gcauggcaug ggacauaug 3600  
augaacuggu cggccacggc caccaugauc cuggcguacg ugaugcgcgu ccccgagguc 3660  
aucauagaca ucguuagcg ggcucacugg ggcgucaugu ucggcuuggc cuacuucucu 3720  
augcagggag cgugggcgaa ggucauuguc auccuucugc ugcccgcugg gguggacg 3780  
ggcaccacca cguuggagg cgcugugca cguuccacca acgugauugc cggcguguuc 3840  
agccauggcc cucagcagaa cauucagcuc auuaacacca acggcaguug gcacaucaac 3900  
cguacugccu ugaauugcaa ugacuccuug aacaccggcu uucucgcggc cuuguucuac 3960  
accaaccgcu uuaacucguc agggugucca gggcgccugu cggccugccg caacaucgag 4020  
gcuuuccgga uagggugggg cacccuacag uacgaggaua augucaccaa uccagaggau 4080  
augaggccgu acugcuggca cuaccccca aagccgugug gcguaguucc cgcgaggucu 4140  
guguguggcc caguguacug uuucacccca agcccgguag uagugggcac gaccgacaga 4200  
cguggagugc ccaccuacac augggagag aaugagacag augucuuccu acugaacagc 4260  
acccgaccgc cgcaggcuc augguucggc ugcacgugga ugaacuccac ugguuucacc 4320  
aagacuugug ggcgcacc uugccgcacc agagcugacu ucaacgccag cacggacuug 4380  
uugugccua cggauuguuu uaggaagcau ccugaugcca cuuauauua gugugguucu 4440  
gggcccuggc ucacaccaa gugccugguc cacuacccuu acagacucug gcauuacccc 4500  
ugcacaguca auuuuaccau cuucaagaua agaauguaug uaggggggug ugagcacagg 4560  
cucacggccg caugcaacuu cacucguggg gaucgcugcg acuuggagga cagggacagg 4620  
agucagcugu cuccucuguu gcacucuacc acgaauggg ccauccugcc cugcaccuac 4680

ucagacuuac ccgcuuuguc aacuggucuu cuccaccuuuc accagaacau cguggacgu 4740  
caauacaugu auggccucuc accugcuauc acaaaaucg ucgucgaug ggagugggug 4800  
guacucuuau uccugcucuu agcggacgcc agagucugcg ccugcuugug gaugcucauc 4860  
uuguugggccc aggccgaagc agcauuggag aaguuggugc ucuugcacgc ugcgagugcg 4920  
gcuaacugcc auggccuccu auauuuugcc aucuucuucg uggcagcuug gcacaucagg 4980  
ggucgggugg uc(cc)uugac caccuaugc cucacuggcc uauggccuu cugccuacug 5040  
cucauggcac ugccccggca ggcuuuaugcc uaugacgcac cugugcacgg acagauaggc 5100  
guggguuugu ugauauugau cacccucuuc acacucaccc cggguauaa gaccuccuc 5160  
ggccaguguc uguggugguu gugcuaucuc cugaccugg ggaaagccau gauucaggag 5220  
uggguaccac ccaugcaggu gcgcggcggc cgcgauggca ucgcgugggc cgucacuaua 5280  
uucugccgg gugugguguu ugacauuacc aaauggcuuu uggcguugcu ug(cc)cugcu 5340  
uaccucuuua gggccgcuuu gacacaugug ccguacuucg ucagagcuca cgcucugaua 5400  
agguaugcg cuuuggugaa gcagcucgcg gggguaggu auguucaggu ggcgcuaauug 5460  
gccuuggca gguggacugg caccuacauc uaugaccacc ucacaccuau guccgacugg 5520  
gccgcuagcg gccugcgcga cuuagcgguc gccguggaac caucaucuu caguccgaug 5580  
gagaagaagg ucaucgucug gggagcggag acggcugcau guggggacau ucuacaugga 5640  
cuu(cc)gugu ccgcccgcacu cggccaggag auccuccucg gcccagcuga ug(c)uacacc 5700  
uccaaggggu ggaagcuccu ugcucccauc acugcuuaug cccagcaaac acgaggccuc 5760  
cuggcgcaca uaguggugag uaugacgggg cgugacagga cagaacaggc cgggaaaguc 5820  
caaauccugu ccacagucuc ucaguccuuc cucggaacaa ccaucucggg gguuuugugg 5880  
acuguuuacc acggagcugg caacaagacu cuagccggcu uacggguucc gguacacgcag 5940  
auguacucga gugcugaggg ggacuuggua ggcuggccca gccccccugg gaccaagucu 6000  
uuggagccgu gcaagugugg agccgucgac cuauaucugg ucacgcggaa cgcugauguc 6060  
aucccggcuc ggagacgcgg ggacaagcgg ggagcauugc ucuccccgag acccauuucg 6120  
accuugaagg gguccucggg gggccggug cucugccua gggccacgu cguugggcuc 6180  
uuccgagcag cugugugcuc ucggggcug gccaauucca ucgauuucau cccguugag 6240  
acacucgacg uuguuacaag gucucccacu uucagugaca acagcacgcc accggcugug 6300  
ccccagaccu aucaggucgg guacuugcau gcuccaacug gcaguggaaa gagcaccaag 6360  
gucccugucg cguaugccgc ccagggguac aaaguacuag ugcuuuaccc cucguagcu 6420

gccacccugg gguuuggggc guaccuaucc aaggcacaug gcaucaaucc caacauuagg 6480  
acuggagluca ggaccgugau gaccggggag gccaucacgu acuccacaua uggcaaauuu 6540  
cucgccgaug ggggcugcgc uagcggcgcc uaugacauc ucauaugcga ugaaugccac 6600  
gcuguggaug cuaccuccau ucucggcauc ggaacggucc uugaucaagc agagacagcc 6660  
ggggucagac uaacugugcu ggcuacggcc acaccccccgg gguagugac aaccccccatt 6720  
cccgauauag aagagguagg ccucgggcgg gagggugaga ucccccucua ugggagggcg 6780  
auuuccuau ccugcaucaa gggagggaga caccugauuu ucugccacuc aaagaaaaag 6840  
ugugacgagc ucgcggcgcc cciucggggc auggcuuga augccguggc auacauuaga 6900  
ggguuggacg ucuccauaa accagcucag ggagaugugg ugguagucgc caccgacgccc 6960  
cucaugacgg gguacacugg agacuuugac uccgugauag acugcaaugu agcggucacc 7020  
caagcugucg acuucagccu ggacccacc uucacuuaaa ccacacagac ugucccacaa 7080  
gacgcugucu cacgcaguca gcgcgcggg cgacaggua gaggaagaca gggcacuuau 7140  
agguauguuu ccacugguga acgagccuca ggaauuguug acaguguagu gcuuugugag 7200  
ugcuacgacg cagggcugc gugguacgau cucacaccag cggagaccac cgucaggcuu 7260  
agagcguauu ucaacacgccc cggccuaccc gugugucaag accaucuuga auuuugggag 7320  
gcaguuuuuca ccggccucac acacauagac gcccacuuucc ucuccaaac aaagcaagcg 7380  
ggggagaacu ucgcguaccu aguagccuac caagcuacgg ugugcgccag agccaaggcc 7440  
ccuccccgu ccugggacgc cauguggaag ugccuggccc gacucaagcc uacgcuugcg 7500  
ggccccacac cucuccugua ccguuugggc ccuauuacca augaggucac ccucacacac 7560  
ccugggacga aguacaucgc cacaugcaug caagcugacc uugaggucu gaccagcacg 7620  
uggguccuag cuggaggagu ccuggcagcc gucggccau auugccuggc gacuggaugc 7680  
guuuccauca ucggccgcuu gcacgucaac cagcgaguacg ucguugcgcc ggauaaggag 7740  
guccuguaug aggcuuuga ugagauggag gaaugcgccu cuagggcgcc ucucaucgaa 7800  
gaggggcagc ggauagccga gauguugaag uccaagaaucc aaggcuugcu gcagcaggcc 7860  
ucuaagcagg cccaggacau acaacccgcu augcaggcuu caugggccaa aguggaacaa 7920  
uuuugggcca gacacaugug gaacuucauu agcggcaucc aauaccucgc aggauuguca 7980  
acacugccag ggaaccccgcc gguggcuucc augauggcau ucagugccgc ccucaccagu 8040  
ccguugucga ccaguaccac cauccuucu aacaucaugg gagggcugguu agcgucccg 8100  
aucgcaccac ccgcgggggc caccggcuuu gucguagug gccugguggg ggcugccgug 8160

ggcagcauag gccuggguaa ggugcuggug gacauccugg caggauaugg ugcggcauu 8220  
ucggggccc ucgucgcauu caagaucuac ucuggcgaga agcccucuau ggaagauguc 8280  
aucaaucuac ugccugggau ccugucuccg ggagcccugg ugugggggu caucugcgcg 8340  
gccauucugc gccgccacgu gggaccgggg gagggcgcgg uccaauggau gaacaggcuu 8400  
auugccuuug cuuccagagg aaaccacguc gccccuacuc acuacgugac ggagucggau 8460  
gcuucgcagc gugugaccca acuacuuggc ucucuuacua uaaccagccu acucagaaga 8520  
cuccacaauu ggauaacuga ggacugcccc auccaugcu ccggaucug gcuccgcgc 8580  
gugugggacu ggguuugcac caucuugaca gacuucaaaa auuggcugac cucuaauug 8640  
uuccccaagc ugcccggccu ccccuucauc ucuugucaaa aggguacaa gggugugugg 8700  
gccggcacug gcaucaugac cacgcgcugc cciugcggcg ccaacaucuc uggcaauguc 8760  
cgccugggcu cuaugaggau cacagggccu aaaaccugca ugaacaccug gcaggggacc 8820  
uuuccuaauca auugcuacac ggagggccag ugcfgccga aaccccccac gaacuacaag 8880  
accgccaucu ggaggguggc ggccucggag uacgcggagg ugacgcagca ugguucguac 8940  
uccuauguaa caggacugac cacugacaau cugaaaauuc cuugccaauc acciuucucca 9000  
gaguuuuucu ccugggugga cggugugcag auccauaggu uugcaccac accaaagccg 9060  
uuuuuccggg augaggucuc guucugcguu gggcuuaauu ccuaugcugu cggguccag 9120  
ciuuccugug aaccugagcc cgacgcagac guauugaggu ccaugcuaac agauccgccc 9180  
cacaucacgg cggagacugc ggccggcg uuggcacgg gauaccucc aucugaggcg 9240  
agcuccucag ugagccagcu aucagcaccc ucgcugcggg ccaccugcac caccacagc 9300  
aacaccuaug acguggacau ggucgaugcc aaccugcuca ugagggcgg uguggcucag 9360  
acagagccug aguccagggu gcccguucug gacuuucucg agccaauggc cgaggaagag 9420  
agcgaccuug agcccucaa accaucggag ugcaugcucc ccaggagcgg guuuccacgg 9480  
gccuuaccgg cuugggcacg gccugacuac aaccgcgcgc ucguggaauc guggaggagg 9540  
ccagauuacc aaccgcac cguugcuggu ugugcucucc ccccccac gaaggccccg 9600  
acgccucccc caaggagacg ccggacagug ggucugagcg agagcaccau aucagaagcc 9660  
cuccagcaac ugccaucaa gaccuuuggc cagcccccuc cgagcgguga ugcaggcucg 9720  
uccacggggg cggcgccgc cgaaucggc gguccgacgu cccugguga gccggcccc 9780  
ucagagacag guuccgcccuc cucuaugccc cccucgagg gggagccugg agauccggac 9840  
cuggagucug aucagguaga gcuucaaccu ccccccagg ggggggggggu agcuuccgg 9900

ucgggcucgg gguguugguc uacuugcucc gagggaggacg auaccaccgu gugcugcucc 9960  
auguauacu ccuggaccgg ggcucuaaua acucccugua gccccgaaga ggaaaaguug 10020  
ccaucaacc cuuugaguaa cucgcuguug cgauaccaua acaaggugua cuguacaaca 10080  
ucaaagagcg ccucacagag ggcuaaaaaag guaacuuuug acaggacgca agugcucgac 10140  
gcccauaug acucagucuu aaaggacauc aagcuagcgg cuuccaaggu cagcgcaagg 10200  
cuccucaccu uggaggaggc gugccaguug acuccacccc auucugcaag aucuaaguau 10260  
ggauucgggg ccaaggaggu ccgcagcuug uccgggaggg cguuaacca caucaaguucc 10320  
guguggaagg accuccugga agacccacaa acaccaauuc ccacaaccau cauggccaaa 10380  
aaugaggugu ucugcgugga ccccgccaag gggguuaaga aaccagcug ccucaucguu 10440  
uaccugacc ucggcguccg ggucugcgg aaaauggccc ucuauacau uacacaaaag 10500  
cuuccucagg cgguaauuggg agcuuccuau ggcuuccagu acuccccugc ccaacggug 10560  
gaguaucucu ugaaagcaug ggcgaaaaag aaggacccca ugguuuuuc guaugauacc 10620  
cgaugcuiucg acucaaccgu cacugagaga gacauacagga ccgaggaguc cauauaccag 10680  
gccugcuccc ugcccgagga ggcccgcacu gccaucacu cgcugacuga gagacuuuac 10740  
guaggaggc ccauguucaa cagcaagggu caaaccugcg guuacagacg uugccgccc 10800  
agcggggugc uaaccacuag caugguaac accaucacau gcuaugugaa agccuagcg 10860  
gccugcaagg cugcggggau aguugcgccc acaaugcugg uaugcggcga ugaccuagua 10920  
gucaucucag aaagccaggg gacugaggag gacgagcggg accugagagc cuucacggag 10980  
gccaugacca gguacucugc cccuccuggu gauccccca gaccggaaaua ugaccuggag 11040  
cuaauaacau ccuguuccuc aaaugugucu guggcguugg gcccgcggg cgcgcgcaga 11100  
uacuaccuga ccagagaccc aaccacucca cucgcccggg cugccuggga aacaguuaga 11160  
cacuccccua ucaauucaug gcugggaaac aucauccagu augcuacaac cauauggguu 11220  
cgcauggucc uaaugacaca ciuciucucc auucucaugg uccaagacac ccuggaccag 11280  
aaccucaacu uugagaugua uggaucagua uacuccguga auccuuugga cciuccagcc 11340  
auaaauugaga gguuacacgg gcuugacgcc uuuucuaugc acacauacuc ucaccacgaa 11400  
cugacgcggg ugcuucagc ccucagaaaa cuuggggcgc cacccucag gguguggaag 11460  
agucgggcuc ggcagucag ggcguccuc aucucccgug gagggaaagc ggccguuugc 11520  
ggccgauauc ucuucaauug ggcggugaag accaagcuca aacucacucc auugccggag 11580  
gcgcgcuac uggacuuaua caguugguuc accgucggcg ccggcggggg cgacauuuuu 11640

cacagcgugu cgcgccggcc accccgcuca uuacucuucg gccuacuccu acuuuucgua 11700  
ggguaggcc ucuuccuacu ccccgucgg uagagcggca cacacuaggu acacuccaua 11760  
gcuaacuguu ccuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuucuuuu 11820  
uuuuuuuuuu cccucuuucu ucciuucuca ucuuauucua cuuucuuucu ugugggcucc 11880  
aucuuagccc uagucacggc uagcugugaa agguccguga gccgcaugac ugcagagagu 11940  
gccguaacug gucucucugc agaucaugu 11969

<210> 22

<211> 11969

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: replicon RNA derived from the expression vector rFGR-JFH1/Luc/GND

<400> 22

accugccccu aauagggcg acacuccgccc augaaucacu cccugugag gaacuacugu 60  
cuucacgcag aaagcgccua gccauggcgu uaguaugagu gucguacagc cuccaggccc 120  
ccccucccg ggagagccau aguggucugc ggaaccggug aguacaccgg aauugccggg 180  
aagacugggu ccuuucuugg auaaacccac ucuaugcccg gccaauuuggg cgugccccg 240  
caagacugcu agccgaguag cguuggguug cgaaaggccu ugugguacug ccugauaggg 300  
cgcuugcgag ugccccggga ggucucguag accgugcacc augagcacaa auccuaaacc 360  
ucaaagaaaa accaaaagaa acaccaaccg acgcuuaaug gaagacgcca aaaacauaaa 420  
gaaaggcccg ggcuaauucu auccucugga ggauggaacc gcuggagagc aacugcauaa 480  
ggcuaugaag agauacgccc ugguuccugg aacaauugcu uuuacagaug cacauaucga 540  
ggugaacauc acguacgcgg aauacuucga aauguccguu cgguuggcag aagcuaugaa 600  
acgauauggg cugaaauacaa aucacagaau cgucguauagc agugaaaacu cucuucaauu 660

cuuuauugccg guguuggggcg cguuauuuau cgagaguugca guugcgccccg cgaacgacau 720  
uuauaaugaa cgugaaauugc ucaacaguau gaacauuucg cagccuaccg uaguguuugu 780  
uuccaaaaag ggguugcaaa aaauuuugaa cgugcaaaaa aaauuaccaa uaauccagaa 840  
aauuauuauc auggauucua aaacggauua ccagggauuu cagucgaugu acacguucgu 900  
cacaucuau cuaccucccg guuuuaauga auacgauuuu guaccagagu ccuuugaucg 960  
ugacaacaaca auugcacuga uaaugaacuc cucuggaucu acuggguuac cuaaggugu 1020  
ggccciuccg cauagaacug ccugcgucag auucucgcau gccagagauc cuauuuuugg 1080  
caaucaaauc auuccggaua cugcgauuuu aaguguuguu ccauuccauc acgguuuugg 1140  
aauguuuacu acacucggau auuugauuaug uggaauuucga gucgucuua uguauagauu 1200  
ugaagaagag cuguuuuuac gaucciuuca ggauuacaaa auucaaagug cguugcuagu 1260  
accaaccua uuuucauucu ucgc当地aaag cacucugauu gacaaaauacg auuuaucuaa 1320  
uuuacacgaa auugcuucug gggcgccacc ucuuucgaaa gaagucgggg aagcgguugc 1380  
aaaacgcuuc caucuuccag ggauacgaca aggauauggg cucacugaga cuacaucagc 1440  
uauucugauu acacccgagg gggaugauaa accggcgcg gucguaaag uuguuccauu 1500  
uuuugaagcg aagguugugg aucuggauac cggaaaacg cugggcguua aucagagagg 1560  
cgaauuaugu gucagaggac cuaugauua guccgguuau guaaacaauc cggaagcgac 1620  
caacgccuug auugacaagg auggauggcu acauucugga gacauagcuu acugggacga 1680  
agacgaacac uucuucauag uugaccgcuu gaagucuuua auuaaaauaca aaggauauca 1740  
gguggcccccc gcugaaauugg aaucgauauu guuacaacac cccaacauu ucgacgcggg 1800  
cguggcaggu cucccgacg augacgccgg ugaacuuccc gccgcccguug uuguuuugga 1860  
gcacggaaag acgaugacgg aaaaagagau cguggauuac gucgccaguc aaguaacaac 1920  
cgcaaaaaag uugcgccggag gaguuguguu uguggacgaa guaccgaaag gcuuuaccgg 1980  
aaaacucgac gcaagaaaaa ucagagagau ccuauuaag gccaaagaagg gcggaaaguc 2040  
caaauuguaa guuuuaaccc ucuccuccc ccccccuuaa cguuacuggc cgaagccgcu 2100  
uggaauuaagg ccggugugcg uuugucuaua uguuauuuuc caccauauug ccgucuuuug 2160  
gcaaugugag gccccggaaa ccuggccug uciuucuugac gagcauuccu aggggucuuu 2220  
ccccucucgc caaaggaaug caaggucugu ugaauugucgu gaaggaagca guuccucugg 2280  
aagcuucuug aagacaaaca acgucuguag cgaccuuug caggcagcgg aaccccccac 2340  
cuggcgacag gugccucugc ggccaaaagc cacguguaua agauacaccu gcaaaggcgg 2400

cacaacccca gugccacguu gugaguugga uaguugugga aagagucaa auggcucuccu 2460  
caagcguauu caacaagggg cugaaggaaug cccagaaggu accccauugu augggaucug 2520  
aucuggggcc ucgugcaca ugcuuuacau guguuaguc gagguuaaaa aaacgucuag 2580  
gccccccgaa ccacggggac gugguuuucc uuugaaaaac acgaugauac caugagcaca 2640  
aauccuaaac cucaaagaaa aaccaaaga aacaccaacc gucccaga agacguuaag 2700  
uucccggcg gggccagau cguuggcgga guauacuugu ugccgcgcag gggccccagg 2760  
uugggugugc gcacgacaag gaaaacuucg gagcgguccc agccacgugg gagacgccag 2820  
cccaucccc aagaucggcg cuccacuggc aaggccuggg gaaaaccagg ucgccccugg 2880  
ccccuauaug ggaugaggg acucggcugg gcaggauggc uccugcccc ccgaggcucu 2940  
cgccccuccu gggccccac ugaccccgga cauaggucgc gcaacguggg uaaagucauc 3000  
gacacccuaa cguguggcuu ugccgaccuc augggguaca ucccgucgu aggcccccgg 3060  
cuuaguggcg ccgcccagagc ugucgcgcac ggugagag uccuggagga cggguuaau 3120  
uaugcaacag ggaaccuacc cgguiucccc uuuucuaucu ucuugcuggc ccuguugucc 3180  
ugcaucaccc uuccggucuc ugcugccag guaagaaua ccaguagcag cuacauggug 3240  
accaaagacu gcuccaauga cagcaucacu ugacgcucg aggcugcggu ucuccacguc 3300  
cccgggugcg ucccgugcgagag aauacgucac gguguugggu gccagucucg 3360  
ccaaacaugg cugugcgca gcccggugcc cucacgcagg gucugcggac gcacaucgau 3420  
augguuguga uguccgcccc ac c uucugcucu gcucucuacg ugaaaaaccu cuguggcg 3480  
gugaugcucg cggcccaggu guucaucguc ugcgcgcagu accacugguu ugugcaagaa 3540  
ugcaauugcu ccaucuaccc uggcaccauc acuggacacc gcauggcaug ggacauaug 3600  
augaacuggu cggccacggc caccaugauc cuggcguacg ugaugcgcgu ccccgagguc 3660  
aucauagaca ucguaagcgg ggcucacugg ggcgucaugu ucggcuuggc cuaciuucu 3720  
augcagggag cguggcgaa ggucauuguc auccuucugc ugcccgcugg gguggacg 3780  
ggcaccacca cccguuggagg cgcugugca cguuccacca acgugauugc cggcguguuc 3840  
agccauggcc cucagcagaa cauucagcuc auuaacacca acggcaguug gcacaucaac 3900  
cguacugccu ugaauugcaa ugacuccuug aacaccggcu uucucggc cuuguucuac 3960  
accaaccgcu uuaacucguc agggugucca gggcgccugu ccgcugcccg caacaucgag 4020  
gcuuuccgga uagggugggg cacccuacag uacgaggaua augucaccaa uccagaggau 4080  
augaggccgu acugcuggca cuaccccca aagccgugug gcuaguccc cgcgaggucu 4140

guguguggcc caguguacug uuucacccccc agcccgguag uagugggcac gaccgacaga 4200  
cguggagugc ccaccuacac auggggagag aaugagacag augucuuccu acugaacagc 4260  
acccgaccgc cgcaaggcuc augguucggc ugcacgugga ugaacuccac ugguuucacc 4320  
aagacuugug gcgcgccacc uugccgcacc agagcugacu ucaacgccag cacggacuug 4380  
uugugccua cggauguuu uaggaagcau ccugaugcca cuuauauua gugugguucu 4440  
ggcccccuggc ucacaccaa gugcugguc cacuacccuu acagacucug gcauuacccc 4500  
ugcacaguca auuuuaccau cuucaagaua agaauguaug uagggggggu ugagcacagg 4560  
cucacggccg caugcaacuu cacucguggg gaucgcugcg acuuggagga cagggacagg 4620  
agucagcugu cuccucuguu gcacucuacc acgaauggg ccauccugcc cugcaccuac 4680  
ucagacuuac ccgcuuuguc aacuggucuu cuccaccuuuc accagaacau cguggacqua 4740  
caauacaugu auggccucuc accugcuauc acaaaaauacg ucuucgaug ggagugggug 4800  
guacucuuau uccugcucuu agcggacgccc agagucugcg ccugcuugug gaugcucauc 4860  
uuguugggccc aggccgaagc agcauuggag aaguuggucg ucuugcacgc ugcgagugcg 4920  
gcuaacugcc auggccuccu auauuuugcc aucuucuucg uggcagcuug gcacaucagg 4980  
ggucgggugg uc(cc)uugac caccuauugc cucacuggcc uauggccuu cugccuacug 5040  
cucauggcac ugccccggca ggcuuaugcc uaugacgcac cugugcacgg acagauaggc 5100  
guggguuugu ugauauugau caccucuuuc acacucaccc cggguauaa gaccuccuc 5160  
ggccaguguc uguggugguu gugcuaucuc cugacccugg gggaaagccau gauucaggag 5220  
uggguaccac ccaugcaggu ggcggcgcc cgcgauggca ucgcgugggc cgucacuaua 5280  
uucugcccg gugugguguu ugacauuacc aaauggcuuu ugugcugcu ugugccugcu 5340  
uaccucuuaa gggccgcuuu gacacaugug cgcuacuucg ucagagcuca cgcucugaua 5400  
agguaugcg cuuuggugaa gcagcucgcf gggguaggu auguucaggu ggcgcuaug 5460  
gccuuggca gguggacugg caccuacauc uaugaccacc ucacaccuau gucggacugg 5520  
gccgcuagcg gccugcgcgca cuuagcgguac gccguggaac ccaucaucuu caguccgaug 5580  
gagaagaagg ucaucgucug gggagcggag acggcugcau guggggacau ucuacaugga 5640  
cuucccugu ccgcccgcacu cggccaggag auccuccucg gcccagcuga ugugcuacacc 5700  
uccaaggggu ggaagcuccu ugcucccauc acugcuuaug cccagcaaac acgaggccuc 5760  
cugggcgcca uaguggugag uaugacgggg cgugacagga cagaacaggc cgggaaaguc 5820  
caaauccugu ccacagucuc ucaguccuuc cucggaacaa ccaucucggg gguuuugugg 5880

acuguuuacc acggagcugg caacaagacu cuagccggcu uacggggucc ggucacgcag 5940  
auguacucga gugcugagggg ggacuuggua ggcuggccca gccccccugg gaccaagucu 6000  
uuggagccgu gcaagugugg agccgucgac cuauaucugg ucacg~~cg~~gaa cgcugauguc 6060  
auccggcuc ggagacgcgg ggacaagcgg ggagcauugc ucuccccgag acccauuucg 6120  
accuugaagg gguccucggg gggccggug cucugccua ggggccacgu cguugggcuc 6180  
uuccgagcag cugugugcuc ucggggcgug gccaaaucca ucgauuucau ccccguugag 6240  
acacucgacg uuguuacaag gucucccacu uucagugaca acagcacgcc accggcugug 6300  
ccccagaccu aucaggcgg guacuugcau gcuccaacug gcaguggaaa gagcaccaag 6360  
gucccugucg cguaugccgc ccagggguac aaaguacuag ugcuaaacc cucguagcu 6420  
gccacccugg gguuuggggc guaccuauc aaggcacau gcaucaaucc caacauuagg 6480  
acuggaguca ggaccgugau gaccggggag gccaucacgu acuccacaua uggcaaauuu 6540  
cucgccgaug gggcuggc uagcggcgcc uaugacauca ucauaugcga ugaaugccac 6600  
gcuguggaug cuaccuccau ucucggcauc ggaacggucc uugacaagc agagacagcc 6660  
gggucagac uaacugugcu ggcuacggcc acaccccccg ggucagugac aaccccccau 6720  
ccgauauag aagagguagg ccucggcgg gagggugaga uccccuucua uggaggggcg 6780  
auuccuau ccugcauca gggagggaga caccugauuu ucugccacuc aaagaaaaag 6840  
ugugacgagc ucgcggcggc cciucggggc augggcuuga augccguggc auacuauaga 6900  
ggguuggacg ucuccauaa accagcucag ggagaugugg uggucgucgc caccgacgcc 6960  
cucaugacgg gguacacugg agacuuugac uccgugaucg acugcaaugu agcgguacc 7020  
caagcugucg acuucagccu ggacccacc uucacuaua ccacacagac uguccaca 7080  
gacgcugucu cacgcaguca ggccccggg cgcacaggua gaggaagaca gggcacuuau 7140  
agguauguuu ccacugguga acgagccuca ggaauguuug acaguguagu gcuuugugag 7200  
ugcuacgacg caggggc gugguacgau cucacaccag cggagaccac cgucaggcu 7260  
agagcguauu ucaacacgccc cggccuaccc gugugucaag accaucuuga auuuuggggag 7320  
gcaguuuuca ccggccuacac acacauagac gcccacuucc ucuccaaac aaagcaagcg 7380  
ggggagaacu ucgguacccu aguaccuac caagcuacgg ugugcgccag agccaagcc 7440  
ccuccccgu ccugggacgc cauggggaag ugccuggcccc gacucaagcc uacgcuugcg 7500  
ggccccacac cucccugu ccguuugggc ccuauuacca augggguac ccucacacac 7560  
ccugggacga aguacaugc cacaugucaug caagcuguccac uugaggguca gaccaggcacg 7620

uggguccuag cuggaggagu ccuggcagcc gucgccgcau auugccuggc gacuggaugh 7680  
guuuccauca ucggccgcuu gcacguacaac cagcgagucg ucgugcgcc ggauaaggag 7740  
guccuguaug aggcuuuuga ugagauggag gaaugcgccu cuagggcggc ucucaucgaa 7800  
gaggggcagc ggauagccga gauguugaag uccaagaaucc aaggcuugcu gcagcaggcc 7860  
ucuaagcagg cccaggacau acaaccgcu augcaggcuu cauggccaa aguggaaca 7920  
uuuugggcca gacacaugug gaacuucauu agcggcaucc aauaccucgc aggauuguca 7980  
acacugccag ggaaccccgc gguggcuucc augauggcau ucagugccgc ccucaccagu 8040  
ccguugucga ccaguaccac cauccuucuc aacaucaugg gaggcugguu agcguccag 8100  
aucgcaccac cgcgggggc caccggcuu gucgucaug gcccugggg ggcugccgug 8160  
ggcagcauag gccugguaa ggugcuggug gacauccugg caggauaugg ugcgggcauu 8220  
ucgggggccc ucgucgcauu caagaaucaug ucuggcgaga agcccucuau ggaagauguc 8280  
aucaaucuac ugccugggau ccugucuccg ggagcccugg uguggggggu caucugcgcg 8340  
gccauucugc gccgcccacgu gggaccgggg gagggcgcgg uccaauggau gaacaggcuu 8400  
auugccuuug cuuccagagg aaaccacguc gccccuacuc acuacgugac ggagucggau 8460  
gctucgcagc gugugaccca acuacuuggc ucucuuacua uaaccagccu acucagaaga 8520  
cuccacaauu ggauaacuga ggacugcccc auccaugcu ccggauccug gcuccgcgc 8580  
gugugggacu ggguuugcac caucuugaca gacuucaaaa auuggcugac cucuaauug 8640  
uuccccaaagc ugcccggccu ccccuucauc ucuugucaaa agggguacaa gggugugugg 8700  
gccggcacug gcaucaugac cacgcgcugc cciugcggcg ccaacaucuc uggcaauguc 8760  
cgccugggcu cuaugaggau cacagggcu aaaaccugca ugaacaccug gcaggggacc 8820  
uuuccuaucu auugcuacac ggagggccag ugcgcgcga aaccccccac gaacuacaag 8880  
accgccaucu ggaggguggc ggccucggag uacgcggagg ugacgcagca ugguucguac 8940  
uccuauguaa caggacugac cacugacaau cugaaaaauuc cuugccaaac acciuucucca 9000  
gaguuuuuucu ccugggugga cggugugcag auccauaggu uugcaccac accaaagccg 9060  
uuuuuccggg augaggucuc guucugcguu gggcuuaauu ccuaugcugu cggguccag 9120  
ciuuccugug aaccugagcc cgacgcagac guauugaggu ccaugcuaac agauccgccc 9180  
cacaucacgg cggagacugc ggccggcg uuggcacggg gaucaccucc aucugaggcg 9240  
agcuccucag ugagccagcu aucagcaccc ugcugcggg ccaccugcac cacccacagc 9300  
aacaccuaug acguggacau ggucgaugcc aaccugcuu uggagggcgg uguggcucag 9360

acagagccug aguccagggu gcccgguucug gacuuucucg agccaauggc cgaggaagag 9420  
agcgaccuug agcccucaa accaucggag ugcaugcucc ccaggagcgg guuuccacgg 9480  
gccuuaccgg cuugggcacg gccugacuac aaccgcgcgc ucguggaauc guggaggagg 9540  
ccagauuacc aaccgcccac cguugcuggu ugugcucucc cccccccaa gaaggccccg 9600  
acgccucccc caaggagacg ccggacagug ggucugagcg agagcaccau aucagaagcc 9660  
cuccagcaac ugccaucaa gaccuuuggc cagcccccu cgagcgguga ugcaggcucg 9720  
uccacggggg cggcgccgc cgaaucggc gguccgacgu cccugguga gccggcccc 9780  
ucagagacag guuccgcccuc cucuaugccc cccucgagg gggagccugg agauccggac 9840  
cuggagucug aucagguaga gcuucaaccu ccccccagg ggggggggggu agcucccggu 9900  
ucgggcucgg ggucuugguc uacuugcucc gagggaggacg auaccaccgu gugcugcucc 9960  
augucauacu ccuggaccgg ggcucuaaua acuccugua gccccgaaga ggaaaaguug 10020  
ccaucaacc cuuugaguua cucgcuguug cgauaccaua acaaggugua cuguacaaca 10080  
ucaaagagcg ccucacagag ggcuaaaaag guaacuuuug acaggacgca agugcucgac 10140  
gcccauuuug acucagucuu aaaggacauc aagcuagcgg cuuccaaggu cagcgcaagg 10200  
cuccucaccu ugaggaggagc gugccaguug acuccacccc auucugcaag auccaaguau 10260  
ggauucgggg ccaaggaggu ccgcagcuug uccgggaggg cguuaacca caucaagucc 10320  
guguggaagg accuccugga agacccacaa acaccaauuc ccacaaccau cauggccaaa 10380  
aaugaggugu ucugcgugga ccccgccaag gggguuaaga aaccagcucg ccucaucguu 10440  
uaccugacc ucggcguccg ggucugcggag aaaauggccc ucuauacau uacacaaaag 10500  
ciuccucagg cgguauggg agcuuccuau ggcuuccagu acucccugc ccaacggug 10560  
gaguaucucu ugaaagcaug ggcggaaaag aaggacccc ugguuuuuuc guaugauacc 10620  
cgaugcuucg acucaaccgu cacugagaga gacaucagga ccgaggaguc cauauaccag 10680  
gccugcuccc ugcccggagga ggccgcacu gccaucacu cgcugacuga gagacuuuac 10740  
guaggagggc ccaugucaa cagcaagggu caaaccugcg guuacagacg uugccgcgcc 10800  
agcggggugc uaaccacuag caugguaac accaucacau gcuauugugaa agccuagcg 10860  
gccugcaagg cugcggggau aguugcgccc acaauggcugg uaugcggcaa ugaccuagua 10920  
gucaucucag aaagccaggg gacugaggag gacgagcggg accugagagc cuucacggag 10980  
gccaugacca gguacucugc cccuccuggu gauccccc gaccggaaaua ugaccuggag 11040  
cuaauaacau ccuguuccuc aaaugugucu guggcguugg gcccgcggg cgcgcgcaga 11100

uacuaccuga ccagagaccc aaccacucca cucgccggg cugccuggga aacaguuaga 11160  
cacuccccua ucaauucaug gcugggaaac aucauccagu augcuccaac cauauggguu 11220  
cgcauggucc uaauagacaca cuucuucucc auucucaugg uccaagacac ccuggaccag 11280  
aaccucaacu uugagaugua uggaucagua uacuccguga auccuuugga cciuccagcc 11340  
auaaugaga gguuacacgg gcuugacgcc uuuucuaugc acacauacuc ucaccacgaa 11400  
cugacgcggg ugcuucagc ccucagaaaa cuuggggcgc cacccucag gguguggaag 11460  
agucgggcuc ggcgcagucag ggcguccuc aucucccgug gagggaaagc ggccguuugc 11520  
ggccgauauc ucuucaaauug ggcggugaag accaagcuca aacucacucc auugccggag 11580  
gcgcgcuac ugacuuauac caguugguuc accgucggcg ccggcggggg cgacauuuuu 11640  
cacagcgugu cgcgccccg accccgcuca uuacucuucg gccuacuccu acuuuucgua 11700  
ggguaggcc uciuccuacu ccccgucgg uagagcggca cacacuaggu acacuccaua 11760  
gcuaacuguu ccuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uuuuucuuuu 11820  
uuuuuuuuuu cccucuuuucu uccuucuca ucuuauucua cuuucuuucu ugugggcucc 11880  
aucuuagccc uagucacggc uagcugugaa agguccguga gccgcaugac ugcagagagu 11940  
gccguaacug gucucucugc agaucaugu 11969

<210> 23

<211> 11036

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: replicon RNA derived from the expression vector rFGR-JFH1/EGFP

<400> 23

accugcccu aauagggcg acacuccgccc augaaucacu cccugugag gaacuacugu 60  
cuucacgcag aaagcgccua gccauggcgu uaguaugagu gucguacagc cuccaggccc 120

cccccucccg ggagagccau aguggucugc ggaaccggug aguacaccgg aauugccggg 180  
aagacugggu ccuuucuugg auaaacccac ucuauugcccg gccauuuggg cgugcccccg 240  
caagacugcu agccgaguag cguuggguug cgaaaggccu ugugguacug ccugauaggg 300  
cgcuugcgag ugccccggga ggucucguag accgugcacc augagcacaa auccuaaacc 360  
ucaaagaaaa accaaaagaa acaccaaccg acgcguaaug gugagcaagg gcgaggagcu 420  
guucaccggg guggugccca uccuggucga gcuggacggc gacguaaacg gccacaaguu 480  
cagcgugucc ggcgagggcg agggcgaugc caccuacggc aagcugaccc ugaaguucau 540  
cugcaccacc ggcaagcugc ccgugcccug gcccacccuc gugaccaccc ugaccuacgg 600  
cgugcagugc uucagccgcu accccgacca caugaagcag cacgacuucu ucaaguccgc 660  
caugcccga ggcuacgucc aggagcgcac caucuucuuc aaggacgacg gcaacuacaa 720  
gaccggcgcc gagggugaagu ucgagggcga caccuggug aaccgcaucg agcugaaggg 780  
caucgacuuc aaggaggacg gcaacaucu ggggcacaag cuggaguaca acuacaacag 840  
ccacaacguc uauaucaugg ccgacaagca gaagaacggc aucaagguga acuuaagau 900  
ccgcccacaac aucgaggacg gcagcgugca gcucgcccac cacuaccagc agaacacccc 960  
caucggcgac ggccccgugc ugcugcccga caaccacuac cugagcaccc aguccgccc 1020  
gagcaaagac cccaacgaga agcgcgauca caugguccug cuggaguucg ugaccgcccgc 1080  
cgggaucacu cucggcaugg acgagcugua caaguaaguu uaaacccucu cccucccccc 1140  
ccccuaacgu uacuggccga agccgcuugg aauaaggccg gugugcguuu gucuauaugu 1200  
uauuuuccac cauauugccg ucuuuuggca augugagggc ccggaaaccu ggcccugucu 1260  
ucuugacgag cauuccuagg ggucuuuccc cucucgccaa aggaugcaa ggucuguuga 1320  
augucugaa ggaagcaguu ccucuggaag cuucuugaag acaaacaacg ucuguagcga 1380  
cccuuugcag gcagcggaac cccccaccug gcgcacaggug ccucugccgc caaaagccac 1440  
guguauaaga uacaccugca aaggcggcac aaccgcagug ccacguugug aguuggauag 1500  
uuguggaaag agucaaauugg cucuccucaa gcguauucaa caagggcug aaggaugccc 1560  
agaagguacc ccauuguauug ggaucugauc ugccccucg gugcacaugc uuuacaugug 1620  
uuuagucgag guaaaaaaaaa cgucuaggcc ccccgAACCA cggggacgug guuuuccuuu 1680  
gaaaaacacg augauaccau gagcacaaau ccuaaaccuc aaagaaaaac caaaagaaac 1740  
accaaccguc gcccagaaga cguuaaguuc ccgggcggcg gccagaucgu ugcccggag 1800  
uacuuguugc cgcgcagggg ccccagguug ggugugcgca cgacaaggaa aacuucggag 1860

cggucccagc cacguggggag acgccagccc aucccaaag aucggcgcuc cacuggcaag 1920  
gccuggggaa aaccaggugc ccccuggcc cuauauggga augagggacu cggcuggggca 1980  
ggauggcucc ugucccccg aggcucucgc cccuccuggg gccccacuga cccccggcau 2040  
aggucgcgca acguggguaa agucaucgac acccuaacgu guggcuiiugc cgaccucaug 2100  
ggguacaucc cgcucguagg cgccccgcuu aguggcgccg ccagagcugu cgcgcacggc 2160  
gugagagucc uggaggacgg gguuaauuaau gcaacaggga accuaccgg uiuucccuum 2220  
ucuaucuucu ugcuggccu guuguccugc aucaccguuc cggucucugc ugcccaggug 2280  
aagaauacca guagcagcua cauggugacc aaugacugcu ccaauggacag caucacuugg 2340  
cagcucgagg cugcgguucu ccacguccccc gggugcgucc cgugcgagag aguggggaaau 2400  
acgucacggu guugggugcc agucucgc ca aacauggcug ugcggcagcc cggugccuc 2460  
acgcaggguc ugcggacgca caucgauaung guugugaugu ccgcccaccuu cugcucugcu 2520  
cucuacgugg gggaccucug ugugggggug augcucgcgg cccagguguu caucgucucg 2580  
ccgcaguacc acugguuugu gcaagaaugc aauugcucca ucuacccugg caccaucacu 2640  
ggacaccgca uggcauggga caugaugaung aacuggucgc ccacggccac caugauccug 2700  
gcguacguga ugcgcguccc cgaggucauc auagacaucg uuagcggggc ucacuggggc 2760  
gucauguucg gcuuggccua cuucucuaug cagggagcgu gggcgaaggu cauugucauc 2820  
cuucugcugg ccgcuggggu ggacgcgggc accaccaccc uuggaggcgc uguugcacgu 2880  
uccaccaacg ugauugccgg cguguucagc cauggcccuc agcagaacau ucagcucauu 2940  
aacaccaacg gcaguuggca caucaaccgu acugccuuga auugcaauga cuccuugaac 3000  
accggcuiiuc ucgcggccuu guucuacacc aaccgcuuua acucguagg guguccaggg 3060  
cgccuguccg ccugccgcaa caucgaggcu uuccggauag gguggggcac ccuacaguac 3120  
gaggauaung ucaccaaucc agaggauaung aggccguacu gcuggcacua cccccc当地 3180  
ccguguggcg uaguccccgc gaggucugug uguggcccag uguacuguuu cacccccc当地 3240  
ccgguaguag ugcccacgac cgacagacgu ggagugccca ccuacacaug gggagagaaau 3300  
gagacagaung uciuuccuacu gaacagcacc cggccggc当地 agggcucaug guucggcugc 3360  
acguggaug aacuccacugg uiuucaccaag acuuguggcg cgccaccuug ccgcaccaga 3420  
gcugacuuca acgccagcac ggacuugugug ugcccuaacgg auuguuuuag gaagcauccu 3480  
gaugccacuu auauuaagug ugguucuggg cccuggcuca caccaaagug ccugguccac 3540  
uaccuuaca gacucuggca uuacccugc acagucaauu uuaccaucuu caagauaaga 3600

auguauguag gggggguuga gcacaggcuc acggccgcau gcaacuucac ucguggggau 3660  
cgcugcgacu uggaggacag ggacaggagu cagcugucuc cucuguugca cucuaccacg 3720  
gaaugggcca uccugcccug caccuacuca gacuuacccg cuuuguacaac ugguccuuc 3780  
caccuucacc agaacauugu ggacguacaa uacauguaug gccucucacc ugcuaucaca 3840  
aaauacgucg uucgauggga guggguggua cucuuauucc ugcucuuagc ggacgccaga 3900  
gucugcgccu gcuuguggau gcucaucuug uugggccagg ccgaagcagc auuggagaag 3960  
uuggucgucu ugcacgcugc gagugcggcu aacugccaug gccuccuuaa uuugccauc 4020  
uucuucgugg cagcuuggca caucaggggu cggguggucc cciugaccac cuauugccuc 4080  
acuggccuau gccccuucug ccuacugcuc auggcacugc cccggcaggg uuaugccuau 4140  
gacgcaccug ugcacggaca gauaggcgug gguuuguuga uauugaucac ccucuucaca 4200  
cucaccccg gguauaaagac ccuccucggc cagugucugu ggugguugug cuaucuccug 4260  
accuggggg aagccaugau ucaggagugg guaccaccca ugcaggugcg cggcgccgc 4320  
gauggcaucg cgugggccgu cacuauauuc ugcccggug uguguuuga cauuaccaa 4380  
uggcuuuugg cguugcuugg gccugcuuac cucuuaaggg ccgcuuugac acaugugccg 4440  
uacuucguca gagcucacgc ucugauaagg guaugcgcuu uguguaagca gcucgcgggg 4500  
gguagguau uucagguggc gcuauuggcc cuuggcaggu ggacuggcac cuacaucuau 4560  
gaccaccuca caccuauguc ggacugggcc gcuagcggcc ugcgcgacuu agcggucgcc 4620  
guggaaccca ucaucuucag uccgauggag aagaaggua ucgucugggg agcggagacg 4680  
gcugcaugug gggacauucu acauggacuu cccguguccg cccgacucgg ccaggagauc 4740  
cuccucggcc cagcugaugg cuacaccucc aaggggugga agcuccuugc ucccaucacu 4800  
gcuuaugccc agcaaacacg aggccuccug ggcgc当地 uggugaguau gacggggcgu 4860  
gacaggacag aacaggccgg ggaaguuccaa auccugucca cagucucuca gucciuccuc 4920  
ggaacaacca ucucgggggu uuuguggacu guuuaccacg gagcuggcaa caagacucua 4980  
gccggcuuac gggguccggu cacgc当地 aug uacucgagug cugaggggg cuugguaggc 5040  
uggcccagcc cccugggac caagucuuug gagccgugca aguguggagc cgucgaccua 5100  
uaucugguca cgcggaacgc ugaugucauc ccggcucgg gacgcggggca agcggggca 5160  
gcauugcucu ccccgagacc cauuucgacc uugaaggggu ccucgggggg gccggugcuc 5220  
ugcccuaggg gccacgucgu uggecucuuc cgagcagcug ugugcucucg gggcguggcc 5280  
aaauccaucg auiucauccc cguugagaca cucgacguug uuacaagguc ucccacuuuc 5340

agugacaaca gcacgccacc ggcugugccc cagaccuauc aggucggua cuugcaugcu 5400  
ccaacuggca guggaaagag caccaagguc ccugucgcgu augccgccc gggguacaaa 5460  
guacuagugc uuaaccccuc gguagcugcc acccuggggu uuggggcgua ccuauccaag 5520  
gcacauggca ucaauccaa cauuaggacu ggagucagga ccgugaugac cggggaggcc 5580  
aucacguacu ccacauaugg caaauuucuc gc cgaugggg gcugcgcuag cggcgccuau 5640  
gacaucauca uaugcgauga augccacgcu guggaugcua ccuccauucu cggcaucgga 5700  
acgguccuug aucaagcaga gacagccggg gucacuuaa cugugcuggc uacggccaca 5760  
ccccccgggu cagugacaac cccccauccc gauauagaag agguaggccu cgggcgggag 5820  
ggugagaucc cciucuaugg gagggcgauu cccuauccu gcaucaaggg agggagacac 5880  
cugauuuucu gccacucaa gaaaaagugu gacgagcucg cggcgccu ucggggcaug 5940  
ggcuugaaug ccguggcaua cuauagaggg uuggacgucu ccauaauacc agcucaggg 6000  
gauguggugg ucguccac cgacgcccuc augacgggu acacuggaga cuuugacucc 6060  
gugaucgacu gcaauguagc ggucacccaa gcugucgacu ucagccugga ccccaccuuc 6120  
acuauaacca cacagacugu cccacaagac gcugucucac gcagucagcg ccgcgggcgc 6180  
acagguagag gaagacaggg cacuuauagg uauguuucca cuggugaacg agccucagga 6240  
auguuugaca guguagugcu uugugagugc uacgacgcag gggcugcug guacgaucuc 6300  
acaccagcgg agaccaccgu caggcuuaga gc guauuuca acacgcccgg cciaccgug 6360  
ugucaagacc aucuugaauu uugggaggca guuuucacccg gccucacaca cauagacgcc 6420  
cacuuccucu cccaaacaaa gcaagcgggg gagaacuucg cguaccuagu agccuaccaa 6480  
gcuacggugu gcgccagagc caaggccccu ccccguccu gggacgccau guggaagugc 6540  
cuggccgac ucaagccuac gciugcgccc cccacaccuc uccuguacccg uuuggggccu 6600  
auuaccaaag agguacacccu cacacacccu gggacgaagu acaucgccac augcaugcaa 6660  
gcugaccuug aggucaugac cagcacgugg guccuagcug gaggaguccu ggcagccguc 6720  
gccgcauauu gccuggcgac uggaugcguu uc caucaucg gccgcuugca cguaccag 6780  
cgagucgucg uugcgccgga uaaggagguc cuguaugagg cuuuugauga gauggaggaa 6840  
ugcgccucua gggcggcucu caucgaagag gggcagcggg uagccgagau guugaagucc 6900  
aagauccaaag gciugcugca gcaggccucu aagcaggccc aggacauaca acccgcuau 6960  
caggcuucau ggcacaaagu ggaacaauuu ug gggccagac acauguggaa cuucauuagc 7020  
ggcauccaaau accucgcagg auugucaaca cugccaggaa accccgcggu ggcuuccaug 7080

auggcauuca gugccgccccu caccaguccg uugucgacca guaccaccau cciucucaac 7140  
aucauggggag gcugguuuagc gucccagauc gcaccacccg cgggggccac cggcuuuguc 7200  
guaguggcc uggugggggc ugccgugggc agcauaggcc ugguaagggu gcugguggac 7260  
auccuggcag gauauggugc gggcauuucg gggcccccucg ucgcauucaa gaucaugucu 7320  
ggcgagaagc ccucuaugga agaugucauc aaucuacugc cugggauccu gucuccggga 7380  
gcccuggugg ugggggucau cugcgccggc auucugcgcc gccacguggg accgggggag 7440  
ggcgccggucc aauggaugaa caggcuuauu gccuuugcuu ccagagggaaa ccacgucgccc 7500  
ccuacucacu acgugacgga gucggaugcg ucgcagcgug ugacccaacu acuuggcucu 7560  
cuuacuauaa ccagccuacu cagaagacuc cacaauugga uaacugagga cugcccauc 7620  
ccaugcuccg gauccuggcu ccgcgacgug uggaugggg uuugcaccau cuugacagac 7680  
uucaaaaaauu ggcugaccuc uaaauuguuc cccaaagcugc ccggccuccc cuucaucucu 7740  
ugucaaaagg gguacaaggg ugugugggcc ggacacuggca ucaugaccac ggcugccu 7800  
ugcggcgcca acaucucugg caauguccgc cugggcucua ugaggaucac agggccuaaa 7860  
accugcauga acaccuggca gggaccuuu ccuaucuuu gcuacacgga gggccagugc 7920  
gccccgaaac cccccacgaa cuacaagacc gccaucugga ggguggccggc cucggaguac 7980  
gcggagguga cgcagcaugg gucguacucc uauguaacag gacugaccac ugacaaucug 8040  
aaaauuccuu gccaacuacc uucuccagag uuuuucuccu ggguggacgg ugugcagauc 8100  
cauagguuug cacccacacc aaagccguuu uuccgggaug aggucucguu cugcguuggg 8160  
cuuaauuccu augcugucgg gucccagcnu cccugugaac cugagcccga cgccagacqua 8220  
uugaggucca ugcuaacaga uccgccccac aucacggcgg agacugccgg gcggcgcuug 8280  
gcacggggau caccuccauc ugaggcgagc uccucaguga gccagcuauc agcaccgucg 8340  
cugccggcca ccugcaccac ccacagcaac accuaugacg uggacauggu cgaugccaaac 8400  
cugcucaugg agggcggugu ggcucagaca gagccugagu ccagggugcc cguucuggac 8460  
uuucucgagc caauggccga ggaagagagc gaccuugagc ccucaauacc aucggagugc 8520  
augcucccca ggagcggguu uccacgggcc uuaccggcui gggcacggcc ugacuacaac 8580  
ccgcccccucg ugaaucgug gaggaggcca gauuaccaac cgccccaccgu ugcugguugu 8640  
gcucuccccc ccccccaagaa ggccccgacg ccucccccaa ggagacgccc gacagugggu 8700  
cugagcgaga gcaccauauc agaagcccuc cagcaacugg ccaucaagac cuuuggccag 8760  
ccccccucga gcggugauagc aggcucgucc acgggggcgg gcggccggcga auccggcggu 8820

ccgacguccc cuggugagcc ggccccuca gagacaggua cgccuccuc uaugcccccc 8880  
cucgaggggg agccuggaga uccggaccug gagucugauc agguagagcu ucaaccuccc 8940  
ccccaggggg gggggguagc ucccgguucg ggcucgggu cuuggucuac uugcuccgag 9000  
gaggacgaua ccaccgugug cugcuccaug ucauacuccu ggaccggggc ucuaauaacu 9060  
ccuguagcc cgaaagagga aaaguugcca aucaacccuu ugaguaacuc gcuguugcga 9120  
uaccauaaca agguguacug uacaacauca aagagcgccu cacagagggc uaaaaaggua 9180  
acuuuugaca ggacgcaagu gcucgacgcc cauuauagacu cagucuuaaa ggacaucaag 9240  
cuagcggcuu ccaaggucag cgcaaggcuc cucaccuugg aggaggcgug ccaguugacu 9300  
ccaccccauu cugcaagauc caaguaugga uucggggcca aggagguccg cagcuugucc 9360  
gggagggccg uuaaccacau caaguccgug uggaaggacc uccuggaaga cccacaaaca 9420  
ccaauuccca caaccaucau ggccaaaaau gagguguucu gcguggaccc cgccaagggg 9480  
gguaagaaac cagcucgccc caucguuuac ccugaccucg gcguccgggu cugcgagaaa 9540  
auggcccucu augacauuac acaaaagcuu ccucaggcgg uaaugggagc uuccuauggc 9600  
uuccaguacu cccugccca acggguggag uaucucuuga aagcaugggc ggaaaagaag 9660  
gaccccaugg guuuuucgua ugauaccgga ugcuuucgacu caaccgucac ugagagagac 9720  
aucaggaccg aggaguccau auaccaggcc ugcucccugc ccgaggaggc ccgcacugcc 9780  
auacacucgc ugacugagag acuuuacqua ggagggccca uguucaacag caagggucaa 9840  
accugcgguu acagacguug ccgcgcgcagc ggggugcuua ccacuagcau ggguaacacc 9900  
aucacaugcu augugaaagc ccuagcggcc ugcaaggcug cggggauagu ugcccacaca 9960  
augcugguau gcggcgauga ccuaguaguc aucucagaaa gccaggggac ugaggaggac 10020  
gagcggacc ugagagccuu cacggaggcc augaccaggu acucugcccc uccuggugau 10080  
ccccccagac cggaaauauga ccuggagcua auaacaucu guuccuaaa ugugucugug 10140  
gcguugggccc cgccggggccg ccgcagauac uaccugacca gagacccaac cacuccacuc 10200  
gcccgggcug ccugggaaac aguuagacac uccccuauc auucauggcu gggaaacauc 10260  
auccaguau cuccaaccau auggguucgc augguccua ugacacacuu cuucuccauu 10320  
cucauggucc aagacacccu ggaccagaac cuaacuuug agauguaugg aucaguauac 10380  
uccgugaauc cuuuggaccu uccagccaua auugagaggu uacacgggcu ugacgccuuu 10440  
ucuaugcaca cauacucuca ccacgaacug acgcgggugg cuucagccu cagaaaacuu 10500  
ggggcgccac cccucagggu guggaagagu cgggcucgcg cagucaggc gucccucauc 10560

ucccguggag ggaaagcggc cguuugcggc cgauaucuccaauugggc ggugaagacc 10620  
aagcucaaac ucacuccauu gccggaggcg cgccuacugg acuuauccag uugguucacc 10680  
gucggcgccg gcgggggcga cauuuuucac agcgugucgc ggcgcgacc ccgcucauu 10740  
cucuucggcc uacuccuacu uuucguaggg guagccuc uccuacuccc cgcucgguag 10800  
agcggcacac acuagguaca cuccauagc aacuguuccu uuuuuuuuuuu uuuuuuuuuuu 10860  
uuuuuuuuuuuu uuuuuuuuuuu uuuuuuuuuuu uuuuuuuuccc ucuuucuucc cuucucaucu 10920  
uauucuacuu uuuuucuugg uggcucauc uuagccuag ucacggcuag cugugaaagg 10980  
uccgugagcc gcaugacugc agagagugcc guaacugguc ucucugcaga ucaugu 11036

<210> 24

<211> 11036

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: replicon RNA derived from the expression vector rFGR-JFH1/EGFP/GND

<400> 24

accugccccu aauagggcg acacuccgcc augaaucacu ccccugugag gaacuacugu 60  
cuucacgcag aaagcgccua gccauggcgu uaguaugagu gucguacagc cuccaggccc 120  
ccccucccg ggagagccau aguggucug ggaaccggug aguacaccgg aauugccgg 180  
aagacugggu ccuuucuugg auaaacccac ucuaugcccg gccauuugggg cgugcccccg 240  
caagacugcu agccgaguag cguuggguug cgaaaggccu ugugguacug ccugauaggg 300  
cgcuugcgag ugccccggga ggucucguag accguggcacc augagcacaa auccuaaccc 360  
ucaaaagaaaa accaaagaa acaccaaccg acgcguaaug gugugcaagg gcgaggggacu 420  
guucaccgggg guggugccca uccugggucg agcuggacacg gcccacaaguu 480  
cagcugucc ggcgagggcg aggggcaugc caccuacgggc aaguguaccc ugaguucau 540

cugcaccacc ggcaagcugc ccgugccug gcccacccuc gugaccaccc ugaccuacgg 600  
cgugcagugc uucagccgcu accccgacca caugaagcag cacgacuucu ucaaguccgc 660  
caugcccgaa ggcuacgucc aggagcgcac caucuucuuc aaggacgacg gcaacuacaa 720  
gacccgcgcc gagggugaagu ucgagggcga caccuggug aaccgcaucg agcugaaggg 780  
caucgacuuc aaggaggacg gcaacaucu ggggcacaag cuggaguaca acuacaacag 840  
ccacaacguc uauaucaugg ccgacaagca gaagaacggc aucaagguga acuacaagau 900  
ccgcccacaac aucgaggacg gcagcugca gcucgcccac cacuaccagc agaacacccc 960  
caucggcgac ggccccgugc ugcugccgaa caaccacuac cugagcaccc aguccgccc 1020  
gagcaaagac cccaacgaga agcgcgauca caugguccug cuggaguucg ugaccgccc 1080  
cgggaucacu cucggcaugg acgagcugua caaguaaguu uaaaccucu cccuccccc 1140  
ccccuaacgu uacuggccga agccgcuugg aauaaggccg gugugcguuu gucuauaugu 1200  
uauuuuccac cauauugccg ucuuuuggca augugagggc ccggaaaccu ggcccugucu 1260  
ucuugacgag cauuccuagg ggucuuuccc cucucgcaa aggaugcaa ggucuguuga 1320  
augucgugaa ggaagcaguu ccucuggaag cuucuugaag acaaacaacg ucuguagcga 1380  
cccuuugcag gcagcggAAC cccccaccug gcgcacaggug ccucugccgc caaaagccac 1440  
guguauaaga uacaccugca aaggcggcac aaccccagug ccacguugug aguuggauag 1500  
uuguggaaag agucaaauugg cucuccucaa gcguauucaa caagggcug aaggaugccc 1560  
agaagguacc ccauuguaug ggaucugauc ugccccucg guggcacaugc uuuacaugug 1620  
uuuagucgag guaaaaaaaaa cgucuaggcc ccccgaacca cggggacgug guuuuccuuu 1680  
gaaaaacacg augauaccu gagcacaaaau ccuaaaccuc aaagaaaaac caaaagaaac 1740  
accaaccguc gcccagaaga cguuaaguuc cggggcggcg gccagaucgu ugcccggag 1800  
uacuuguugc cgcgcagggg ccccagguug ggugugcgcga cgacaaggaa aacuucggag 1860  
cggucccagc cacgugggag acgccagccc aucccaaag aucggcgcuc cacuggcaag 1920  
gccuggggaa aaccaggucg ccccuggccc cuauauggga augagggacu cggcugggca 1980  
ggauggcucc ugcccccccg aggcucucgc cccuccuggg gcccccacuga ccccccgc 2040  
aggucgcgca acguggguaa agucaucgac acccuaacgu guggcuuugc cgaccucaug 2100  
ggguacaucc cgcucguagg cgcggcguu aguggcgccg ccagagcugu cgccgcacggc 2160  
gugagagucc uggaggacgg gguuaauua gcaacaggga accuaccggg uuuccccuuu 2220  
ucuaucuucu ugcuggccu guuguccugc aucaccguuc cggucucugc ugcccaggug 2280

aagaauacca guagcagcua cauggugacc aaugacugcu ccaauggacag caucacuugg 2340  
cagcucgagg cugcgguucu ccacgucccc gggugcgucc cgugcgagag aguggggaaau 2400  
acgucacggu guugggugcc agucucgcca aacauggcug ugcggcagcc cggugcccuc 2460  
acgcaggguc ugcggacgca caucgauaung guugugaugu cgcaccuu cugcucugcu 2520  
cucuacgugg gggaccucug uggcggggug augcucgcgg cccagguguu caucgucucg 2580  
ccgcaguacc acugguuugu gcaagaaugc aauugcucca ucuacccugg caccaucacu 2640  
ggacaccgca uggcauggga caugaugaug aacuggucgc ccacggccac caugauggug 2700  
gcguacguga ugcgcguccc cgagguauc auagacaucg uuagcggggc ucacuggggc 2760  
gucauguucg gcuuggccua cuucucuaug cagggagcgu gggcgaaggu cauugucauc 2820  
cuucugcugg ccgcuggggu ggacgcgggc accaccacg uuggaggcgc uguugcacgu 2880  
uccaccaacg ugauugccgg cguguucagc cauggccuc agcagaacau ucagcucauu 2940  
aacaccaacg gcaguuggca caucaaccgu acugccuuga auugcaauga cuccuugaac 3000  
accggcuiuc ucgcggccuu guucuacacc aaccgcuuua acucgucagg guguccaggg 3060  
cgccuguccg ccugccgcaa caucgagggc uuccggauag gguggggcac ccuacaguac 3120  
gaggauaaug ucaccaaucc agaggauaung aggccguacu gcuggcacua cccccaag 3180  
ccguguggcg uagccccgc gaggucugug uguggccag uguacuguuu caccggcagc 3240  
ccgguaguag uggecacgac cgacagacgu ggagugccca ccuacacaug gggagagaau 3300  
gagacagaug ucuuccuacu gaacagcacc cgaccggcgc agggcucaug guucggcugc 3360  
acguggauga acuccacugg uuucaccaag acuuguggcg cgccaccuug ccgcaccaga 3420  
gcugacuua acgccagcac ggacuuguug ugcccacgg auuguuuuag gaagcauccu 3480  
gaugccacuu auauuaagug ugguucuggg cccuggcuca caccaaagug ccugguccac 3540  
uaccuuaca gacucuggca uuacccugc acagucauu uuaccaucuu caagauaaga 3600  
auguauguag gggggguuga gcacaggcuc acggccgcau gcaacuuucac ucguggggau 3660  
cgcugcgacu uggaggacag ggacaggagu cagcugucuc cucuguugca cnuaccacg 3720  
gaauggggca uccugccug caccuacuca gacuuacccg cnuugucaac ugguucuc 3780  
caccuucacc agaacaucgu ggacguacaa uacauuaug gccucucacc ugcuaucaca 3840  
aaauacgucg uucgauggga guggguggua cucuuauucc ugcucuuuagc ggacgcccaga 3900  
gucugcgccu gcuuguggau gcuacuug uuggggcagg ccgaaggcagc auuggagaag 3960  
uuggugcguu ugcacgcugc gagugcggcu aacugccaug gcccuccuaa uuuugccauc 4020

uucuucgugg cagcuuggca caucaggggu cggguggucc cciugaccac cuauugccuc 4080  
acuggccuau gccccuucug ccuacugcuc auggcacugc cccggcaggc uuaugccuau 4140  
gacgcaccug ugcacggaca gauaggcgug gguuuguuga uauugaucac ccucuucaca 4200  
cucaccccg gguauaagac ccuccucggc cagugucugu ggugguugug cuaucuccug 4260  
accuggggg aagccaugau ucaggagugg guaccacca ugcaggugcg cggcgccgc 4320  
gauggcaucg cgugggccgu cacuauauuc ugcccggug uguguuuga cauuaccaa 4380  
uggcuuuugg cguugcuugg gccugcuuac cucuuaaggg ccgcuuugac acaugugccg 4440  
uacuucguca gagcucacgc ucugauaagg guaugcgcuu uguguaagca gcucgcgggg 4500  
gguagguaug uucagguggc gcuauuggcc cuuggcaggu ggacuggcac cuacaucuau 4560  
gaccaccuca caccuauguc ggacugggcc gcuagcggcc ugcgcgacuu agcggucgcc 4620  
guggaacca ucaucuucag uccgauggag aagaaggua ucgucugggg agcggagacg 4680  
gcugcaugug gggacauucu acauggacuu cccguguccg cccgacucgg ccaggagauc 4740  
cuccucggcc cagcugaugg cuacaccucc aaggggugga agcuucciugc ucccaucacu 4800  
gcuuaugccc agcaaacacg aggccuccug ggcccauag ugugaguau gacggggcgu 4860  
gacaggacag aacaggccgg ggaaguccaa auccugucca cagucucuca gucciuuccuc 4920  
ggaacaacca ucucgggggu uuuguggacu guuuaccacg gagcuggcaa caagacucua 4980  
gccggcuuac gggguccggu cacgcagaug uacucgagug cugagggggc cuugguaggc 5040  
uggcccagcc ccccugggac caagcuuug gagccgugca aguguggagc cgucgaccua 5100  
uaucugguca cgcggaacgc ugaugucauc ccggcucgga gacgcggggc caagcggggc 5160  
gcauugcucu ccccgagacc cauuucgacc uugaaggggu ccucgggggg gccggugcuc 5220  
ugccuaggg gccacgucgu uggnucuuc cgagcagcug ugugcucucg gggcguggcc 5280  
aaauccaucg auiucauccc cguugagaca cucgacguug uuacaagguc ucccacuuuc 5340  
agugacaaca gcacgccacc ggcugugccc cagaccuauc agguucggua cuugcaugcu 5400  
ccaacuggca guggaaagag caccaagguc ccugucgcgu augccgccc gggguacaaa 5460  
guacuagugc uuaaccccuc gguagcugcc acccuggggu uuggggcguu ccuauccaag 5520  
gcacauggca ucaaucccaa cauuaggacu ggagucagga ccgugaugac cggggaggcc 5580  
aucacguacu ccacauaugg caaauuucuc gccgaugggg gcugcgcuag cggcgccuau 5640  
gacaucauca uaugcgauga augccacgcu guggaugcua ccuccauucu cggcaucggc 5700  
acgguccuug aucaagcaga gacagccggg gucagacuaa cugugcuggc uacggccaca 5760

ccccccgggu cagugacaac cccccauccc gauauagaag agguaggccu cgggcgggag 5820  
ggugagaucc cciucuaugg gagggcgauu ccccuauccu gcaucaaggg agggagacac 5880  
cugauuuuucu gccacucaa gaaaaagugu gacgagcucg cggcggccu ucggggcaug 5940  
ggcuugaaug ccguggcaua cuauagaggg uuggacgucu ccauaauacc agcucaggga 6000  
gauguggugg ucgucgccac cgacgcccuc augacggggu acacuggaga cuuugacucc 6060  
gugaucgacu gcaauguagc ggucacccaa gcugucgacu ucagccugga ccccaccuuc 6120  
acuauaacca cacagacugu cccacaagac gcugucucac gcagucagcg ccgcgggcgc 6180  
acagguagag gaagacaggg cacuuauagg uauguuucca cuggugaacg agccucagga 6240  
auguuugaca guguagugcu uugugagugc uacgacgcag gggcugcug guacgaucuc 6300  
acaccagcgg agaccaccgu cagggcuuaga gcguauuuca acacgcccgg ccuacccgug 6360  
ugucaagacc aucuugaaau uugggaggca guuuucaccg gccucacaca cauagacgcc 6420  
cacuuccucu cccaaacaaa gcaagcgggg gagaacuucg cguaccuagu agccuaccaa 6480  
gcuacggugu gcgccagagc caaggccccu ccccguccu gggacgc当地 guggaagugc 6540  
cuggcccgac ucaagccuac gcuugcgggc cccacaccuc uccuguaccg uuuggggccu 6600  
auuaccaaag aggucacccu cacacacccu gggacgaagu acaucgccac augcaugcaa 6660  
gcugaccuug aggucaugac cagcacgugg guccuagcug gaggaguccu ggcagccguc 6720  
gccgcauauu gccuggcgac uggaugcguu uccaucuacg gccgc当地 ugca cgucaaccag 6780  
cgagucgucg uugcgccgga uaaggagguc cuguaugagg cuuuugauga gauggaggaa 6840  
ugcgccucua gggcggcucu caucgaagag gggcagcgga uagccgagau guugaagucc 6900  
aagauccaaag gcuugcugca gcaggccucu aagcaggccc aggacauaca acccgcuuugc 6960  
caggcuucau ggcccaaagu ggaacaauuu ugcccagac acauguggaa cuucaauacg 7020  
ggcauccaaau accucgcagg auuguacaaca cugccagggc accccgc当地 ggc当地 uccaaug 7080  
auggc当地 uca gugccgccc caccaguccg uugucgacca guaccaccau cciucuac 7140  
aucaugggag gcugguuagc gucccagauc gcaccacccg cggggccac cggc当地 uugc 7200  
gucaguggcc ugugggggc ugccgugggc agcauaggcc ugguaggu gcugguggac 7260  
auccuggcag gauauggugc gggcauuucg gggccucug ucgcauucaa gaucauguc 7320  
ggcgagaagc ccucuaugga agaugucauc aaucuacugc cugggaucu gucuccggga 7380  
gcccuggugg uguggggucau cugcgccggc auucugcgcc gccacguggg accgggggag 7440  
ggcgccggucc aauggaugaa caggcuuauu gccuuugcui ccagaggaaa ccacgucgcc 7500

ccuacucacu acgugacgga gucggaugcg ucgcagcgug ugacccaacu acuuggcucu 7560  
cuuacuauaa ccagccuacu cagaagacuc cacaauugga uaacugagga cugccccauc 7620  
ccaugcuccg gauccuggcu ccgcgcacug ugacacuggg uuugcaccau cuugacagac 7680  
uucaaaaauu ggcugaccuc uaaaauuguuc cccaagcugc ccggccuccc cuucaucucu 7740  
ugucaaaagg gguacaaggg ugugugggcc ggcacuggca ucaugaccac gcgcugccc 7800  
ugcggcgcca acaucucugg caauguccgc cugggcucua ugaggaucac agggccuaaa 7860  
accugcauga acaccuggca ggggaccuuu ccuaucuuu gcuacacgga gggccagugc 7920  
gcgccgaaac cccccacgaa cuacaagacc gccaucugga ggguggcggc cucggaguac 7980  
gcggagguga cgtagcaugg gucguacucc uauguaacag gacugaccac ugacaauug 8040  
aaaauuccuu gccaacuacc uucuccagag uuuuucuccu ggguggacgg ugugcagauc 8100  
cauagguuug caccacacc aaagccuuu uuccgggaug aggucucguu cugcguuggg 8160  
cuuaauuccu augcugucgg gucccagcuu cccugugaac cugagcccga cgcagacua 8220  
uugaggucca ugcuaacaga uccgccccac aucacggcgg agacugcggc gcggcgcuug 8280  
gcacggggau caccuccauc ugaggcgagc uccucaguga gccagcuauc agcaccgucg 8340  
cugcgggcca ccugcaccac ccacagcaac accuaugacg ugaccauggu cgaugccaaac 8400  
cugcucaugg agggcggugu ggcucagaca gagccugagu ccagggugcc cguucuggac 8460  
uuucucgagc cauggccga ggaagagagc gaccuugagc ccucaauacc aucggagugc 8520  
augcucccca ggagcggguu uccacgggcc uuaccggcuu gggcacggcc ugacuacaac 8580  
ccgccgcucg ugaaucgug gagaggcca gauuaccaac cgcccaccgu ugugguugu 8640  
gcucuccccc ccccaagaa ggccccgacg ccuucccaa ggagacgccc gacagugggu 8700  
cugagcgaga gcaccauauc agaagcccuc cagcaacugg ccaucaagac cuuuggccag 8760  
ccccccucga gcggugauagc aggcucgucc acggggcgg gcggccgcga auccggcggu 8820  
ccgacguccc cuggugagcc ggcccccuca gagacagguu ccgcccuccuc uaugcccc 8880  
cucgaggggg agccuggaga uccggaccug gagucugauc agguagagcu ucaaccucc 8940  
ccccaggggg gggggguagc uccggguucg ggcucgggu cuuggucuac uugcuuccag 9000  
gaggacgaua ccaccgugug cugcuccaug ucauacuccu ggaccggggc ucuaauaacu 9060  
cccuguagcc cgcgaagagga aaaguugcca aucaacccuu ugaguaacuc gcugugcga 9120  
uaccauaaca agguguacug uacaacauc aagagcgccu cacagaggc uaaaaaggua 9180  
acuuuugaca ggacgcaagu gcucgacgcc cauuauugacu cagucuuaaa ggacaucaag 9240

cuagcggciu ccaaggucag cgcaaggcuc cucaccuugg aggaggcgug ccaguugacu 9300  
ccaccccauu cugcaagauc caaguaugga uucggggcca aggagguccg cagcuugucc 9360  
gggagggccg uuaaccacau caaguccgug uggaaggacc uccuggaaga cccacaaaca 9420  
ccaauuccca caaccaucau ggccaaaaau gagguguucu gcguggaccc cgccaagggg 9480  
gguaagaaac cagcucgccu caucguuuac ccugaccucg gcguccgggu cugcgagaaa 9540  
auggcccucu augacauuac acaaaagcuu ccucaggcgg uaaugggagc uuccuauggc 9600  
uuccaguacu ccccugccca acggguggag uaucucuuga aagcaugggc ggaaaagaag 9660  
gaccccaugg guuuuucgua ugauacccga ugcuucgacu caaccgucac ugagagagac 9720  
aucaggaccg aggaguccau auaccaggcc ugcucccugc ccgaggaggc ccgcacugcc 9780  
auacacucgc ugacugagag acuuuacqua ggagggccca uguucaacag caagggucaa 9840  
accugcgguu acagacguug ccgcgcgcagc ggggugcuaa ccacuagcau gguaacacc 9900  
aucacaugcu augugaaagc ccuagcggcc ugcaaggcug cgggauagu ugccccaca 9960  
augcugguau gcggcaauga ccuaguaguc aucucagaaa gccaggggac ugaggaggac 10020  
gagcggaacc ugagagccuu cacggaggcc augaccaggu acucugcccc uccuggugau 10080  
ccccccagac cgaaauauga ccuggagcua auaacaucu guuccuaaa ugugucugug 10140  
gcguugggccc cgcccccccg ccgcagauac uaccugacca gagacccaac cacuccacuc 10200  
gccccggcug ccugggaaac aguuagacac ucccuauca auucauggcu gggaaacauc 10260  
auccaguau cuccaaccau augguuucgc augguccuaa ugacacacuu cuucuccauu 10320  
cucauggucc aagacacccu ggaccagaac cuaacuuug agauguaugg aucaguauac 10380  
uccgugaauc cuuuggaccu uccagccaua auugagaggu uacacggc uacgcccc 10440  
ucuaugcaca cauacucuca ccacgaacug acgcgggugg cuucagccu cagaaaacuu 10500  
ggggcgccac cccucagggu guggaagagu cgggcucgcg cagucagggc gucccuau 10560  
ucccguggag gaaaaagcggc cguuugcggc cgauaucu ucaauuggc ggugaagacc 10620  
aagcucaaac ucacuccauu gccggaggcg cgccuacugg acuuauccag uugguucacc 10680  
gucggcgccg gcgggggcga cauuuuucac agcgugucgc gcgcggacc cgcucuau 10740  
cucuucggcc uacuccuacu uuucguaggg guaggccucu uccuacucc cgcucggug 10800  
agcggcacac acuagguaca cuccauagcu aacuguuccu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu 10860  
uuuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uucuuuuuuu uuuuuuuucc ucuuucuucc cuucucaucu 10920  
uauucuacuu ucuiuucuugg ugcuuccauc uuagccuag ucacggcuag cugugaaagg 10980

uccgugagcc gcaugacugc agagagugcc guaacugguc ucucugcaga ucaugu 11036

<210> 25

<211> 11876

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: replicon RNA derived from the expression vector rFGR-JFH1/SEAP

<400> 25

accugccccu aauagggcg acacuccgcc augaaucacu ccccugugag gaacuacugu 60  
cuucacgcag aaagcgccua gccauggcgu uaguaugagu gucguacagc cuccaggccc 120  
cccccucccg ggagagccau aguggucugc ggaaccggug aguacaccgg aauugccggg 180  
aagacugggu ccuuucuugg auaaacccac ucuaugcccg gccauuuggg cgugcccccg 240  
caagacugcu agccgaguag cguuggguug cgaaaggccu ugugguacug ccugauaggg 300  
cgcuugcgag ugccccggga ggucucguag accgugcacc augagcacaa auccuaaacc 360  
ucaaagaaaa accaaaagaa acaccaaccg acgcguaaug cugcugcugc ugcugcugu 420  
ggccugagg cuacagcucu cccugggcau caucccaguu gagggaggaga acccggacuu 480  
cuggaaccgc gaggcagccg aggccuggg ugccgccaag aagcugcagc cugcacagac 540  
agccgccaag aaccucaua uciuccuggg cgauggguug gggugucua cggugacagc 600  
ugccaggauc cuaaaagggc agaagaaggg caaacugggg ccugagauac cccuggccu 660  
ggaccgcuuc ccauaugugg cucugccaa gacauacaau guagacaaac augugccaga 720  
caguggagcc acagccacgg cuaccugug cgggucaag ggcaacuucc agaccauugg 780  
cuugagugca gccgcccgcu uuaaccagug caacacgaca cgccgguac aggucaucuc 840  
cgugagau cggccaaga aagcagggaa guguagggga gugguaacca ccacacgagu 900  
gcagcacggcc ucgccgccg gcaccaccgc ccacacggug aaccgcaacu gguacucgga 960

cgccgacgug ccugccucgg cccgccagga ggggugccag gacaucgcua cgagcuau 1020  
cuccaacaug gacauugacg ugaucuagg uggaggccga aaguacaugu uucgcauggg 1080  
aaccccagac ccugaguacc cagaugacua cagccaagggu gggaccaggc uggacggaa 1140  
gaaucuggug caggaauuggc uggcgaagcg ccagggugcc cgguaugugu ggaaccgcac 1200  
ugagcuau gaggciuccc uggaccgcuc ugugacccau cucaugguc ucuiugagcc 1260  
uggagacaug aaauacgaga uccaccgaga cuccacacug gaccccuccc ugauggagau 1320  
gacagaggcu gccugcgcc ugcugagcag gaacccccgc ggcuucuucc ucuiucgugga 1380  
ggguggucgc aucgaccaug gucaucauga aagcagggcu uaccggcac ugacugagac 1440  
gaucauguuc gacgacgcca uugagagggc gggccagcuc accagcgagg aggacacgcu 1500  
gagccucguc acugccgacc acucccacgu ciucuccuuc ggaggcuacc cccugcgagg 1560  
gagcuccauc uucggcugg cccuggcaa ggcccgac aggaaggccu acacgguccu 1620  
ccuauacgga aacgguccag gcuaugugcu caaggacggc gcccgccgg auguuaccga 1680  
gagcgagagc gggagcccg aguaucggca gcagucagca gugcccgugg acgaagagac 1740  
ccacgcaggc gaggacgugg cgguguucgc ggcggcccg caggcgcacc ugguucacgg 1800  
cgugcaggag cagacciuca uagcgcacgu cauggccuuc gccgcccugcc ugagccua 1860  
caccggcugc gaccuggcgc ccccgccgg caccaccgac gccgcgcacc cgguuacuc 1920  
uagagucggg gcggccggcc gciucgagca gacaugaguu uaaaccucu cccuccccc 1980  
ccccuaacgu uacuggccga agccgcuugg aauaaggccg gugugcguuu gucuauaugu 2040  
uauuuuccac cauauugccg ucuuuuggca augugagggc cggaaaccu gcccugucu 2100  
ucuugacgag cauuccuagg ggucuuuccc cucucgcca aggaugcaa ggucuguuga 2160  
augucgugaa ggaagcaguu ccucuggaag ciucuugaag acaaacaac ucuguagcga 2220  
ccuuugcag gcagcggaac ccccccacug gcgacaggug ccucugcggc caaaagccac 2280  
guguauaaga uacaccugca aaggcggcac aaccccagug ccacguugug aguuggauag 2340  
uuguggaaag agucaaauugg cucuccucaa gcguauucaa caagggcug aaggaugccc 2400  
agaagguacc ccauuguaug ggaucugauc ugccccucg gugcacaugc uuuacaugug 2460  
uuuagucgag guaaaaaaaaa cgucuaggcc ccccgAACCA cggggacgug guuuuccuuu 2520  
gaaaaacacg augauaccu gagcacaaa ccuaaaccuc aaagaaaaac caaaagaaac 2580  
accaaccguc gcccagaaga cguuaaguuc cccggcggcg gccagaucgu ugacggagua 2640  
uacuuguugc cgcgcagggg ccccagguug ggugugcgca cgacaaggaa aacuucggag 2700

cggucccagc cacguggggag acgccagccc aucccaaag aucggcgcuc cacuggcaag 2760  
gccuggggaa aaccaggucg ccccuggccc cuauauggga augagggacu cggcuggggca 2820  
ggauggcucc uguccccccg aggcucucgc cccuccuggg gccccacuga cccccggcau 2880  
aggucgcgca acguggguaa agucaucgac acccuaacgu guggcuuugc cgaccucaug 2940  
ggguacaucc ccgucguagg cgccccgcuu aguggcgccg ccagagcugu cgcgcacggc 3000  
gugagagucc uggaggacgg gguuaauuau gcaacaggga accuaccgg uuuccccuuu 3060  
ucuaucuucu ugcuggccu guuguccugc aucaccguuc cggucucugc ugcccaggug 3120  
aagaauacca guagcagcua cauggugacc aaugacugcu ccaaugacag caucacuugg 3180  
cagcucgagg cugcgguucu ccacguccccc gggugcgucc cgugcgagag aguggggaaau 3240  
acgucacggu guugggugcc agucucgcca aacauggcug ugcggcagcc cggugccuc 3300  
acgcaggguc ugcggacgca caucgaua augugugau cggccaccuu cugcucugcu 3360  
cucuacgugg gggaccucug uggcggggug augcucgcgg cccagguguu caucgucug 3420  
ccgcaguacc acugguuugu gcaagaaugc aauugcucca ucuaccugg caccaucacu 3480  
ggacaccgca uggcauggga caugaugaug aacuggucgc ccacggccac caugauccug 3540  
gcguacguga ugcgcguccc cgaggucauc auagacaucg uuagcggggc ucacuggggc 3600  
gucauguucg gcuuggccua cuucucuaug cagggagcgu gggcgaaggu cauugucauc 3660  
ciucugcugg ccgcuggggu ggacgcgggc accaccacg uuggaggcgc uguugcacgu 3720  
uccaccaacg ugauugccgg cguguucagc cauggccuc acgagaacau ucagcucuu 3780  
aacaccaacg gcaguuggca caucaaccgu acugccuuga auugcaauga cuccuugaac 3840  
accggcuiuc ucgcggccuu guucuacacc aaccgcuuua acucgucagg guguccaggg 3900  
cgccuguccg ccugccgcaa caucgaggcu uuccggauag gguggggcac ccuacaguac 3960  
gaggauaaug ucaccaaucc agaggaua auggccguacu gcuggcacua cccccc当地 4020  
ccguguggcg uaguccccgc gagguugug uguggccag uguacuguuu cacccccc当地 4080  
ccgguaguag ugcccacgac cgacagacgu ggagugccca ccuacacaug gggagagaau 4140  
gagacagaug ucuuccuacu gaacagcacc cgaccgcgc agggcuuug guucggcugc 4200  
acguggauga acuccacugg uiucaccaag acuuguggcg cgccaccuug ccgcaccaga 4260  
gcugacuuca acgccagcac ggacuuguug ugcccuaacgg auuguuuuag gaagcauccu 4320  
gaugccacuu auauuaagug ugguucuggg cccuggcuu caccaaagug ccugguccac 4380  
uaceccuuaca gacucuggca uuacccuc acagucaaui uuaccaucuu caagauaaga 4440

auguauguag gggggguuga gcacaggcuc acggccgcau gcaacuucac ucguggggau 4500  
cgcugcgacu uggaggacag ggacaggagu cagcugucuc cucuguugca cucuaccacg 4560  
gaaugggcca uccugcccug caccuacuca gacuuacccg cuuuguacaac ugguuuucuc 4620  
caccuucacc agaacaucgu ggacguacaa uacauguaug gccucucacc ugcuaucaca 4680  
aaauacguug uucgauggga guggguggua cucuuauucc ugcucuuagc ggacgccaga 4740  
gucugcgccu gcuuguggau gcucaucuug uugggccagg ccgaagcagc auuggagaag 4800  
uuggucguu ugcacgcugc gagugcggcu aacugccaug gccuccuuaa uuugccauc 4860  
uucuucgugg cagcuuggca caucagggu cggguggucc cciugaccac cuauugccuc 4920  
acuggccuau ggccciucug cciacugcuc auggcacugc cccggcaggc uuaugccuau 4980  
gacgcaccug ugcacggaca gauaggcgug gguuuguuga uauugaucac ccuciucaca 5040  
cucacccgg gguauaagac ccuccucggc cagugucugu ggugguugug cuaucuccug 5100  
acccuggggg aagccaugau ucaggagugg guaccacca ugcaggugcg cggcggccgc 5160  
gauggcaucg cgugggcccgu cacuauauuc ugcccggug ugguguuuga cauuaccaa 5220  
uggcuuuugg cguugcuugg gccugcuuac cucuuaaggg ccgcuuugac acaugugccg 5280  
uacuucguca gagcucacgc ucugauaagg guaugcgcuu uguguaagca gcucgcgggg 5340  
gguagguau uucagguggc gcuauuggcc cuuggcaggu ggacuggcac cuacaucuau 5400  
gaccaccuca caccuauugc ggacuggggcc gcuagcggcc ugcgcgacuu agcggucgcc 5460  
guggaaccca ucaucuucag uccgauggag aagaaggua ucgucugggg agcggagacg 5520  
gcugcaugug gggacauucu acauggacuu cccguguccg cccgacucgg ccaggagauc 5580  
cuccucggcc cagcugaugg cuacaccucc aagggugga agcuccuugc ucccaucacu 5640  
gcuuaugccc agcaaacacg aggccuccug ggcccauag ugugaguau gacggggcgu 5700  
gacaggacag aacaggccgg ggaaguuccaa auccugucca cagucucuca gucciuuccuc 5760  
ggaacaacca ucucgggggu uuuguggacu guuuaccacg gagcuggcaa caagacucua 5820  
gccggcuiuac gggguccggu cacgcagaug uacucgagug cugagggggc cuugguaggc 5880  
uggcccagcc ccccugggac caagucuuug gagccgugca aguguggagc cgucgaccua 5940  
uaucugguca cgcggaacgc ugaugucauc ccggcucgga gacgcggggc caagcggggc 6000  
gcauugcucu ccccggagacc cauuucgacc uugaaggggu ccucgggggg gccggugcuc 6060  
ugccuaggg gccacgucgu uggecucuuc cgagcagcug ugugcucucg gggcguggcc 6120  
aaauccaucg auuucauccc cguugagaca cucgacguug uuacaagguc ucccacuuiuc 6180

agugacaaca gcacgccacc ggcugugccc cagaccuauc agguccggua cuugcaugcu 6240  
ccaacuggca guggaaagag caccaagguc ccugucgcgu augccgccc ggguaacaaa 6300  
guacuagugc uuaaccccuc gguagcugcc acccuggggu uuggggcgua ccuauccaag 6360  
gcacauggca ucaaucccaa cauuaggacu ggagucagga ccgugaugac cggggaggcc 6420  
aucacguacu ccacauaugg caaauuucuc gccgaugggg gcugcgcuag cggcgccuau 6480  
gacaucauca uaugcgauga augccacgcu guggaugcua ccuccauucu cggcaucgga 6540  
acgguccuug aucaagcaga gacagccggg gucagacuaa cugugcuggc uacggccaca 6600  
ccccccgggu cagugacaac cccccauccc gauauagaag agguaggccu cgggcgggag 6660  
ggugagaucc cciucuaugg gagggcgauu cccuauccu gcaucaaggg agggagacac 6720  
cugauuuucu gccacucaaa gaaaaagugu gacgagcucg cggcgcccu ucggggcaug 6780  
ggcuugaaug ccguggcaua cuauagaggg uuggacgucu ccauaauacc agcucaggga 6840  
gauguggugg ucguccac cgacgcccuc augacgggu acacuggaga cuuugacucc 6900  
gugaucgacu gcaauguagc ggucacccaa gcugucgacu ucagccugga ccccaccuuc 6960  
acuauaacca cacagacugu cccacaagac gcugucucac gcagucagcg cgcgggcgc 7020  
acagguagag gaagacaggg cacuuauagg uauguuucca cuggugaacg agccucagga 7080  
auguuugaca guguagugcu uugugagugc uacgacgcag gggcugcug guacgaucuc 7140  
acaccagcgg agaccaccgu cagccuuaga gcguauuuca acacgcccgg cciaccgug 7200  
ugucaagacc aucuugaaau uugggaggca guuuucaccg gccucacaca cauagacgcc 7260  
cacuuccucu cccaaacaaa gcaagccggg gagaacuucg cguaccuagu agccuaccaa 7320  
gcuacggugu gcggcagagc caaggccccu ccccguccu gggacgccaug guggaagugc 7380  
cuggccgac ucaagccuac gcuugccggc cccacaccuc uccuguaccg uuugggccc 7440  
auuaccaaug agguccacccu cacacacccu gggacgaagu acaucgccac augcaugcaa 7500  
gcugaccuug aggucaugac cagcacgugg guccuagcug gaggaguccu ggcagccguc 7560  
gccgcauauu gccuggcgac uggaugcguu uccaucaucg gccgcuugca cguaccag 7620  
cgagucgucg uugccggcga uaaggagguc cuguaugagg cuuuugauga gauggaggaa 7680  
ugccgcucua gggccgcucu caucgaagag gggcagcgga uagccgagau guugaagucc 7740  
aagauccaaag gcuugcugca gcaggccucu aagcaggccc aggacauaca acccgcuau 7800  
caggcciuau ggcacaaagu ggaacaauuu ugcccagac acauguggaa cuucauuagc 7860  
ggcauccaaau accucgcagg auugucaaca cugccagggaa accccgcggu ggcuuccaau 7920

auggcauuca gugccgccccu caccaguccg uugucgacca guaccaccau cciucucaac 7980  
aucaaugggag gcugguuagc gucccagauc gcaccacccg cgggggccac cgccuuuguc 8040  
gucaguggcc uggugggggc ugccgugggc agcauaggcc uggguaagggu gcugguggac 8100  
auccuggcag gauauggugc gggcauuucg ggggccucg uCgcauucaa gaucaugucu 8160  
ggcgagaagc ccucuaugga agaugucauc aaucuacugc cugggauccu gucuccggga 8220  
gcccuggugg ugggggucau cugcgccggc auucugcgcc gCcacguggg accggggag 8280  
ggcgccggucc aauggaugaa caggcuuauu gccuuugcuu cCagaggaaa ccacgucgcc 8340  
ccuacucacu acgugacgga gucggaugcg ucgcagcgug ugacccaacu acuuggcucu 8400  
cuuacuauaa ccagccuacu cagaagacuc cacaauugga uuacugagga cugccccauc 8460  
ccaugcuccg gauccuggcu ccgcgacgug ugugacuggg uuugcaccau cuugacagac 8520  
uucaaaaaauu ggcugaccuc uaaauuguuc cccaagcugc cCggccuccc cuucaucucu 8580  
ugucaaaagg gguacaaggg ugugugggcc ggcacuggca uCaugaccac ggcugccu 8640  
ugcggcgcca acaucucugg caauguccgc cugggcucua ugaggaucac agggccuaaa 8700  
accugcauga acaccuggca gggaccuuu ccuaucuuu gCuacacgga gggccagugc 8760  
gccccgaaac cccccacgaa cuacaagacc gcaucugga gggguggcggc cucggaguac 8820  
gcggagguga cgcagcaugg gucguacucc uauguaacag gacugaccac ugacaaucug 8880  
aaaauuccuu gccaacuacc uucuccagag uuuuucuccu gggguggacgg ugugcagauc 8940  
cauagguuug caccacacc aaagccuuu uccgggaug aggucucguu cugcguuggg 9000  
cuuaauuccu augcugucgg gucccagcuu cccugugaac cugagcccga cgcagacgua 9060  
uugaggucca ugcuaacaga uccgccccac aucacggcgg agacugcggc gcccgcuug 9120  
gcacggggau caccuccauc ugaggcgagc uccucaguga gCcagcuauc agcaccgucg 9180  
cugcgggcca ccugcaccac ccacagcaac accuaugacg ugggacauggu cgaugccaac 9240  
cugcucaugg agggcggugu ggcucagaca gagccugagu cCagggugcc cguucuggac 9300  
uuucucgagc caauggccga ggaagagagc gaccuugagc cCucaauacc aucggagugc 9360  
augcucccca ggagcggguu uccacgggcc uuaccggcuu gggcacggcc ugacuacaac 9420  
ccgcccgcucg ugaaaucgug gaggaggcca gauuaccaac cgcccaccgu ugcugguugu 9480  
gcucuccccc cccccaaagaa ggccccgacg ccuccccaa ggagacgccc gacagugggu 9540  
cugagcgaga gcaccauauc agaagcccuc cagcaacugg cCaucaagac cuuuggccag 9600  
ccccccucga gcggugaugc aggcucgucc acgggggcgg gCgcccgcga auccggcggu 9660

ccgacguccc cuggugagcc ggcccccuca gagacagguu ccgccuccuc uaugcccccc 9720  
cucgaggggg agccuggaga uccggaccug gagucugauc agguagagcu ucaaccuccc 9780  
ccccaggggg gggggguagc ucccgguucg ggcucgggu cuuggucuac uugcuccgag 9840  
gaggacgaua ccaccgugug cugcuccaung ucauacuccu ggaccggggc ucuaauaacu 9900  
cccuguagcc ccgaagagga aaaguugcca aucaacccuu ugaguaacuc gcuguugcga 9960  
uaccauaaca agguguacug uacaacauca aagagcgccu cacagaggc uaaaaaggua 10020  
acuuuugaca ggacgcaagu gcucgacgccc cauuauagacu cagucuuaaa ggacaucaag 10080  
cuagcggcuu ccaaggucag cgcaaggcuc cucaccuugg aggaggcgug ccaguugacu 10140  
ccaccccauu cugcaagauc caaguaugga uucggggcca aggagguccg cagcuugucc 10200  
gggagggccg uuaaccacau caaguccgug uggaaggacc uccuggaaga cccacaaca 10260  
ccaauuccca caaccaucau ggccaaaaau gagguguucu gcguggaccc cgccaagggg 10320  
gguaagaaac cagcucgccc caucguuuac ccugaccucg gcguccgggu cugcgagaaa 10380  
auggccucu augacauuac acaaaagcuu ccucagggcg uaaugggagc uuccuauggc 10440  
uuccaguacu cccugccca acggguggag uaucucuuga aagcauggc ggaaaagaag 10500  
gaccccaugg guuuuucgua ugauaccgga ugciucgacu caaccguac ugagagagac 10560  
aucaggaccg aggaguccau auaccaggcc ugcucccugc ccgaggaggc ccgcacugcc 10620  
auacacucgc ugacugagag acuuuacqua ggagggccca uguucaacag caagggucaa 10680  
accugcgguu acagacguug ccgcgcacgc gggugcuaa ccacuagcau ggguaacacc 10740  
aucacaugcu augugaaagc ccuagcggcc ugcaaggcug cgggauagu ugcccacaca 10800  
augcugguau gcggcgauga ccuaguaguc aucucagaaa gccaggggac ugaggaggac 10860  
gagcggaacc ugagagccu cacggaggcc augaccaggu acucugcccc uccuggugau 10920  
ccccccagac cggaaauauga ccuggagcua auaacaucu guuccucaa ugugucugug 10980  
gcguugggccc cgcggggccg ccgcagauac uaccugacca gagaccacac cacuccacuc 11040  
gcccgggcug ccugggaaac aguuagacac ucccuauca auucauggc gggaaacauc 11100  
auccaguau cuccaaccau augguucgc augguccuaa ugacacacuu cuucuccauu 11160  
cucauggucc aagacacccu ggaccagaac cuacacuuug agauguaugg aucaguauac 11220  
uccgugaauc cuuuggaccu uccagccaua auugagaggu uacacgggcu ugacgccuuu 11280  
ucuaugcaca cauacucuca ccacgaacug acgcgggugg cuucagccu cagaaaacuu 11340  
ggggcgccac cccucagggu guggaagagu cgggcucgcg cagucaggc gucccucauc 11400

ucccguggag ggaaagcggc cguuugcggc cgauaucu ucaauugggc ggugaagacc 11460  
aagcucaaac ucacuccauu gccggaggcg cgccuacugg acuuauccag uugguucacc 11520  
gucggcgccg gcgggggcga cauuuuucac agcgugucgc gcgcccgacc ccgcucauua 11580  
cucuucggcc uacuccuacu uuucguaggg guagggcucu uccuacuccc cgcucggua 11640  
agcggcacac acuagguaca cuccauagcu aacuguuccu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu 11700  
uuuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uucuuuuuuu uuuuuuuucc ucuuucuucc cuucucaucu 11760  
uaauucuacuu ucuuucuugg ugcuuccauc uuagccuag ucacggcuag cugugaaagg 11820  
uccgugagcc gcaugacugc agagagugcc guaacugguc ucucugcaga ucaug 11876

<210> 26

<211> 11876

<212> RNA

<213> Artificial Sequence

<220>

<223> Description of Artificial Sequence: replicon RNA derived from the expression vector rFGR-JFH1/SEAP/GND

<400> 26

accugccccu aauagggcg acacuccgcc augaaucacu cccugugag gaacuacugu 60  
cuucacgcag aaagcgccua gccauggcgu uaguaugagu gucguacagc cuccaggccc 120  
ccccucccg ggagagccau aguggucugc ggaaccggug aguacaccgg aauugccggg 180  
aagacugggu ccuuucuugg auaaacccac ucuaugcccg gccaauuggg cgugccccg 240  
caagacugcu agccgaguag cguugguug cgaaaggccu ugugguacug ccugauaggg 300  
cgciugcgag ugccccggga ggucucguag accgugcacc augagcacaa auccuaaacc 360  
ucaaagaaaa accaaaagaa acaccaaccg acgcguuaug cugcugcugc ugcugcugcu 420  
ggccugagg cuacagcucu cccuggcau caucccaguu gagggaggaga acccggacuu 480  
cuggaaccgc gaggcagecg aggcccuggg ugccgccaag aagcugcagc cugcacagac 540

agccgcgaag aaccucauca ucuuccuggg cgaugggaug ggggugucua cggugacagc 600  
ugccaggauc cuaaaaggc agaagaagga caaacugggg ccugagauac cccuggccau 660  
ggaccgcuuc ccauaugugg cucuguccaa gacauacaau guagacaaac augugccaga 720  
caguggagcc acagccacgg ccuaccugug cgggucaag ggcaacuucc agaccauugg 780  
cuugagugca gccgcccgcu uuaaccagug caacacgaca cgccgcaacg aggucaucuc 840  
cgugaugaau cggccaaga aagcagggaa gucaguggga gugguaacca ccacacgagu 900  
gcagcacgcc ucggcagccg gcaccuacgc ccacacggug aaccgcaacu gguacucgga 960  
cgccgacgug ccugccucgg cccgcccagga gggugccag gacaucgcua cgcagcuau 1020  
cuccaacaug gacauugacg ugaucuagg ugaggccga aaguacaugu uucgcauggg 1080  
aaccccagac ccugaguacc cagaugacua cagccaaggu gggaccaggc ugacacggaa 1140  
gaaucuggug caggaauggc uggcgaagcg ccagggugcc cgguaugugu ggaaccgcac 1200  
ugagcucaug caggcuuccc uggaccgcuc ugugacccau cucaugggcuc ucuuugagcc 1260  
uggagacaug aaauacgaga uccaccgaga cuccacacug gacccucccc ugauggagau 1320  
gacagaggcu gcccugcgcc ugcugagcag gaacccccgc ggcuucuucc ucuucgugga 1380  
ggguggucgc aucgaccaug gucaucauga aagcagggcu uaccgggcac ugacugagac 1440  
gaucauguuc gacgacgcca uugagagggc gggccagcuc accagcgagg aggacacgcu 1500  
gagccucguc acugccgacc acucccacgu cuucuccuuc ggaggcuacc cccugcgagg 1560  
gagcuccauc uucggcugg cccuggcaa ggcccgggac aggaaggccu acacgguccu 1620  
ccuauacgga aacgguccag gcuaugugcu caaggacggc gcccggccgg auguuaccga 1680  
gagcgagagc gggagcccg aguaucggca gcagucagca gugccccugg acgaagagac 1740  
ccacgcaggc gaggacgugg cgguguucgc gcgcggcccg caggcgcacc uggucacgg 1800  
cgugcaggag cagaccuua uagcgcacgu cauggccuuc gccgcccugcc uggagccua 1860  
caccggcugc gaccuggcgc ccccgccgg caccacccgac gccgcgcacc cgguuacuc 1920  
uagagucggg gcggccggcc gcuucgagca gacaugaguu uaaacccucu cccucccccc 1980  
ccccuaacgu uacuggccga agccgcuugg aauaaggccg gugugcguuu gucuauaugu 2040  
uauuuuccac cauauugccg ucuuuuggca augugagggc ccggaaaccu ggcccugucu 2100  
ucuugacgag cauuccuagg ggucuuuccc cucucgccaa aggaugcaa ggucuguuga 2160  
augucugaa ggaagcaguu ccucuggaag cuucuugaag acaaacaacg ucuguagcga 2220  
ccuuugcag gcagcggAAC ccccccaccug gcgcacaggug ccucugcggc caaaagccac 2280

guguauaaga uacaccugca aaggcggcac aacccagug ccacguugug aguuggauag 2340  
uuguggaaag agucaaauugg cucuccucaa gcguauucaa caaggggcug aaggaugccc 2400  
agaagguacc ccauuguaug ggaucugauc ugccccucg gugcacaugc uuuacaugug 2460  
uuuagucgag guaaaaaaaaa cgucuaggcc ccccgAACca cggggacgug guuuuccuuu 2520  
gaaaaaacacg augauaccau gagcacaaau ccuaaaccuc aaagaaaaac caaaagaaaac 2580  
accaaccguc gcccagaaga cguuaaguuc ccgggcggcg gccagaucgu ugcccggag 2640  
uacuuguugc cgcgcagggg ccccagguug ggugugcgca cgacaaggaa aacuucggag 2700  
cggucccagc cacguggggag acgccagccc aucccaaag aucggcgcuc cacuggcaag 2760  
gccuggggaa aaccaggucg ccccugggccc cuauauggga augagggacu cggcugggca 2820  
ggauggcucc ugcccccccg aggucucgc cccuccuggg gccccacuga ccccccggcau 2880  
aggucgcgcga acguggguaa agucaucgac acccuaacgu guggcuuugc cgaccucaug 2940  
ggguacaucc cgcucguagg cgccccgcuu aguggcgccg ccagagcugu cgccacggc 3000  
gugagaguCC uggaggacgg gguuaauuuau gcaacagggaa accuaccggg uuuccccuuu 3060  
ucuaucuuuuc ugcuggccu guuguccugc aucaccguuc cggucucugc ugcccaggug 3120  
aagaauacca guagcagcua cauggugacc aaugacugcu ccaaugacag caucacuugg 3180  
cagcucgagg cugcgguucu ccacgucccc gggugcgucc cgugcgagag aguggggaa 3240  
acgucacggu guugggugcc agucucgc aacauggcug ugcccagcc cggugccuc 3300  
acgcaggguC ugcggacgca caucgauaCg guugugauGu ccgcccacuu cugcucugc 3360  
cucuacgugg gggaccucug ugccccggug augcucgcgg cccagguguu caucgucucg 3420  
ccgcaguacc acugguuugu gcaagaauC aauugcucca ucuaccugg caccaucacu 3480  
ggacaccgca uggcauggga caugaugauC aacuggucgc ccacggccac caugauccug 3540  
gcguacguga ugcgcgucc cgagguauc auagacaucg uuagcggggc ucacuggggc 3600  
gucauguucg gcuuggccua ciucucuaug cagggagcgu gggcgaaggua cauugucauc 3660  
ciucugcugg cgcuggggu ggacgcgggc accaccacg uuggaggcgc uguugcacgu 3720  
uccaccaacg ugauugccgg cguguucagc cauggcccuc agcagaacau ucagcucuu 3780  
aacaccaacg gcaguuggca caucaaccgu acugccuuga auugcaauC cuccuugaac 3840  
accggcuiuc ucgcggccuu guucuacacc aaccgcuuua acucgucagg guguccaggg 3900  
cgccuguccg ccugccgcaa caucgaggcu uuccggauag gguggggcac ccuacaguac 3960  
gaggauaauC ucaccaaucc agaggauaCg aggccguacu gcuggcacia ccccccaaaag 4020

ccguguggcg uagccccgc gaggucugug uguggcccag uguacuguuu cacccccagc 4080  
ccgguaguag uggtcacgac cgacagacgu ggagugccca ccuacacaug gggagagaau 4140  
gagacagaug ucuuccuacu gaacagcacc cgaccgccgc agggcucaug guucggcugc 4200  
acguggauga acuccacugg uuucaccaag acuuguggcg cgccaccuug ccgcaccaga 4260  
gcugacuuca acgccagcac ggacuuguug ugcccuaacgg auuuuuuag gaagcauccu 4320  
gaugccacuu auauuaagug ugguucuggg cccuggcuca caccaaagug ccugguccac 4380  
uacccuuaca gacucuggca uuacccugc acagucaaui uuaccaucuu caagauaaga 4440  
auguauguag gggggguuga gcacaggcuc acggccgcau gcaacuucac ucguggggau 4500  
cgcugcgacu ugaggacag ggacaggagu cagcugucuc cucuguugca cucuaccacg 4560  
gaaugggcca uccugccug caccuacuca gacuuacccg cuuugucaac ugguuucuc 4620  
caccuucacc agaacaucgu ggacguacaa uacauuguag gccucucacc ugcuaucaca 4680  
aaauacgucg uucgauggga guggguggua cucuuauucc ugcucuuagc ggacgccaga 4740  
gucugcgccu gcuuguggau gcuacuucug uuggggcagg ccgaagcagc auuggagaag 4800  
uuggucgucu ugcacgcugc gagugcggcu aacugccaug gccuccuaa uuuugccauc 4860  
uucuucgugg cagcuuggca caucaggggu cggguggucc cciugaccac cuauugccuc 4920  
acuggccuau ggcciuucug cciacugcuc auggcacugc cccggcaggc uuaugccuau 4980  
gacgcaccug ugcacggaca gauaggcgug gguuuguuga uauugaucac ccuciucaca 5040  
cucacccgg gguauaagac ccuccucggc cagugucugu ggugguugug cuaucuccug 5100  
accuggggg aagccaugau ucaggagugg guaccacca ugcaggugcg cggcggccgc 5160  
gauggcaucg cgugggccgu cacuauauuc ugcccggug ugguuuuga cauuaccaa 5220  
uggcuuuugg cguugcuugg gccugcuuac cucuuaggg ccgcuuugac acaugugccg 5280  
uacuucguca gagcucacgc ucugauaagg guaugcgcuu uguguaagca gcucgcgggg 5340  
gguagguau uucagguggc gcuauuggcc cuuggcaggu ggacuggcac cuacaucuau 5400  
gaccaccuca caccuauguc ggacuggggcc gcuagcggcc ugcgcgacuu agcggucgcc 5460  
guggaaccga ucaucuucag uccgauggag aagaaggua ucgucugggg agcggagacg 5520  
gcugcaugug gggacauucu acauggacuu cccguguccg cccgacucgg ccaggagauc 5580  
cuccucggcc cagcugaugg cuacaccucc aaggggugga agcuccuugc ucccaucacu 5640  
gcuuaugccc agcaaacacg aggccuccug ggcgc当地 auggugau gacggggcgu 5700  
gacaggacag aacaggccgg ggaaguccaa auccugucca cagucucuca guccuuccuc 5760

ggaacaacca ucucgggggu uuuguggacu guuuaccacg gagcuggcaa caagacucua 5820  
gccggcuuac ggguccggu cacgcagaug uacucgagug cugaggggga cuugguaggc 5880  
uggcccagcc ccccugggac caagucuuug gagccgugca aguguggagc cgucgaccua 5940  
uaucugguca cgcggaacgc ugaugucauc ccggcucgga gacgcgggga caagcgggga 6000  
gcauugcucu ccccgagacc cauuucgacc uugaagggu ccucggggg gccggugcuc 6060  
ugccuaggg gccacgucgu uggtcucuuc cgagcagcug ugugcucucg gggcguggcc 6120  
aaauccaucg auucauccc cguugagaca cucgacguug uuacaagguc ucccacuuuc 6180  
agugacaaca gcacgcccacc ggcugugccc cagaccuauc agguucggua cuugcaugcu 6240  
ccaacuggca guggaaagag caccaagguc ccugucgcgu augccgccc ggguacaaa 6300  
guacuagugc uuaaccccuc gguagcugcc acccuggggu uuggggcgua ccuaucuaag 6360  
gcacauggca ucaauccaa cauuaggacu ggagucagga ccgugaugac cggggaggcc 6420  
aucacguacu ccacauaugg caaauuucuc gccgaugggg gcugcgcuag cggcgccuau 6480  
gacaucauca uaugcgauga augccacgcu guggaughua ccuccauucu cggcaucgga 6540  
acgguccuug aucaagcaga gacagccgg guagacuaa cugugcuggc uacggccaca 6600  
ccccccgggu cagugacaac cccccauccc gauauagaag agguaggccu cgggcgggag 6660  
ggugagaucc cciucuaugg gagggcgauu cccuauccu gcaucaaggg agggagacac 6720  
cuguuuucu gccacucaa gaaaaagugu gacgagcucg cggcgcccu ucggggcaug 6780  
ggcuugaaug ccguggcaua cuauagaggg uuggacgucu ccauaauacc agcucaggg 6840  
gauguggugg ucguugccac cgacgcccuc augacgggu acacuggaga cuuugacucc 6900  
gugaucgacu gcaauguagc ggucacccaa gcugucgacu ucagccugga ccccaccuuc 6960  
acuauaacca cacagacugu cccacaagac gcugucucac gcagucagcg ccgcggcg 7020  
acagguagag gaagacaggg cacuuauagg uauguuucca cuggugaacg agccucagga 7080  
auguuugaca guguagugcu uugugagugc uacgacgcag gggcugcug guacgaucuc 7140  
acaccagcgg agaccaccgu caggcuuaga gcguauuuca acacgcccgg cciaccgug 7200  
ugucaagacc aucuugaaau uugggaggca guuuucaccg gccucacaca cauagacgcc 7260  
cacuuccucu cccaaacaaa gcaagcgggg gagaacuucg cguaccuagu agccuaccaa 7320  
gcuacggugu ggcgcagagc caaggccccu ccccguccu gggacgccau guggaagugc 7380  
cuggcccgac ucaagccuac gcuugcgggc cccacaccuc uccuguaccg uuuggggccu 7440  
auuaccaaau agguacccu cacacacccu gggacgaagu acaucgcccac augcaugcaa 7500

gcugaccuug aggucaugac cagcacgugg guccuagcug gaggaguccu ggcagccguc 7560  
gccgcaauuu gccuggcgac uggaugcguu uccaucaucg gccgcuugca cgucaaccag 7620  
cgagucguug uugcgccgga uaaggagguc cuguaugagg cuuuugauga gauggaggaa 7680  
ugcgccucua gggcggcucu caucgaagag gggcagcggua uagccgagau guugaagucc 7740  
aagauccaag gcuugcugca gcaggccucu aagcaggccc aggacauaca acccgcuau 7800  
caggcuucau ggcccaaagu ggaacaauuu ugcccagac acauguggaa cuucaauu 7860  
ggcauccaau accucgcagg auugucaaca cugccagggc accccgcggc ggcuucca 7920  
auggcäuua gugccgccc caccaguccg uugucgacca guaccaccau cciucucaac 7980  
aucaugggag gcugguuu 8040  
gucaguggcc uggugggggc ugccgugggc agcauaggc ugguaagg 8100  
auccuggcag gauauggugc gggcauuucg gggccucu 8160  
ggcgagaagc ccucuaugga agaugucauc aaucuacugc cuggauccu gucuccgg 8220  
gcccuggugg uggggguau cugcgccg 8280  
ggcgccggucc aauggaugaa caggcuuauu gccuuugc 8340  
ccuacucacu acgugacgga gucggau 8400  
cuaucuaaa ccagccuacu cagaagacuc cacaauugga uaacugagga cugccccauc 8460  
ccaugcuccg gauccuggcu ccgcgacgug 8520  
uucaaaaaauu ggcugaccuc uaaauuguuc cccaa 8580  
ugucaaaaagg gguacaagg ugugugggc ggcacuggc ucaugaccac ggcugccu 8640  
ugcggcgcca acaucucugg caauguccgc cuggcucua ugaggaucac agggccua 8700  
accugcauga acaccuggca ggggaccuuu ccuaucuuu gcuacacgga gggccagugc 8760  
gcccggaaac cccccacgaa cuacaagacc gcaucugga ggguggcggc cucggaguac 8820  
gcggagguga cgtagcaugg gucguacucc uauguaacag gacugaccac ugacaucug 8880  
aaaaauuccuu gccaacuacc uucuccagag uuuuucuccu ggguggacgg ugugcaga 8940  
cauagguuug cacccacacc aaagccguuu uuccgggaug aggucucguu cugcguuggg 9000  
cuuaauuccu augcugucgg gucccagc 9060  
uugaggucca ugcuaacaga uccgccccac aucacggcgg agacugcggc gcccggcuug 9120  
gcacggggau caccucca 9180  
cugcggggcca ccugcaccac ccacagcaac accuaugacg uggacauggu cgaugccaac 9240

cugcucaugg agggcggugu ggcucagaca gagccugagu ccagggugcc cguucuggac 9300  
uuucucgagc caauggccga ggaagagagc gaccuugagc ccucaauacc aucggagugc 9360  
augcuccccca ggagcggguu uccacgggcc uuaccggcui gggcacggcc ugacuacaac 9420  
ccgcccgcucg ugaaucgug gaggaggcca gauuaccaac cgcccaccgu ugcugguugu 9480  
gcucuccccc ccccaagaa ggccccgacg ccucccccua ggagacgccc gacagugggu 9540  
cugagcgaga gcaccauauc agaagcccuc cagcaacugg ccaucaagac cuuuggccag 9600  
ccccccucga gcggugaugc aggucugucc acggggcgg gcggccgccc auccggcggu 9660  
ccgacguccc cuggugagcc ggcccccuca gagacaggua ccgcccuccuc uaugcccccc 9720  
cucgaggggg agccuggaga uccggaccug gagucugauc agguagagcu ucaaccuccc 9780  
ccccaggggg gggggguagc ucccgguiucg ggcucgggu cuuggucuac uugcuuccgag 9840  
gaggacgaua ccaccgugug cugcuccaug ucauacuccu ggaccggggc ucuaauaacu 9900  
cccuguagcc ccgaagagga aaaguugcca aucaacccuu ugaguaacuc gcuguugcga 9960  
uaccauaaca agguguacug uacaacauc aagagcgccu cacagagggc uaaaaaggua 10020  
acuuuugaca ggacgcaagu gcucgacgccc cauuaugacu cagucuuaaa ggacaucaag 10080  
cuagcggcui ccaaggucag cgcaaggcuc cucaccuugg aggaggcug ccaguugacu 10140  
ccaccccauu cugcaagauc caaguaugga uucggggcca aggagguccg cagcuugucc 10200  
gggagggccg uuaaccacau caaguccug uggaaggacc uccuggaaga cccacaaaca 10260  
ccaaauuccca caaccaucau ggccaaaaau gagguguucu gcguggaccc cgccaaagggg 10320  
gguaagaaac cagcucgccc caucguuuac ccugaccucg gcguccgggu cugcgagaaa 10380  
augcccccucu augacauuac acaaaagcui ccucaggcgg uaaugggagc uuccuauggc 10440  
uuccaguacu cccugccca acggguggag uaucucuuga aagcaugggc ggaaaagaag 10500  
gaccccaugg guuuuucgua ugauaccgc ugcuucgacu caaccgucac ugagagagac 10560  
aucaggaccg aggaguuccau auaccaggcc ugcucccugc ccgaggaggc ccgcacugcc 10620  
auacacucgc ugacugagag acuuuacqua ggagggccca uguucaacag caagggucaa 10680  
accugcgguu acagacguug ccgcgcagc gggugcuua ccacuagcau ggguaacacc 10740  
aucacaugcu augugaaagc ccuagcggcc ugcaaggcug cggggauagu ugcccacaca 10800  
augcugguau gcggcaauga ccuaguaguc aucucagaaa gccaggggac ugaggaggac 10860  
gagcggaacc ugagagccuu cacggaggcc augaccaggu acucugcccc uccuggugau 10920  
ccccccagac cgaaauauga ccuggagcua auaacaucu guuccucaa ugugucugug 10980

gcguuggggcc cgccccccg ccgcagauac uaccugacca gagacccaac cacuccacuc 11040  
gcccgccug ccuggaaac aguuagacac ucccuauca auucauggcu gggaaacauc 11100  
auccaguau g cuccaaccau augguuucgc augguccuaa ugacacacuu cuucuccauu 11160  
cucauggucc aagacacccu ggaccagaac cuacaacuuug agauguaugg aucaguauac 11220  
uccgugaauc cuuuggaccu uccagccaua auugagaggu uacacggcu ugacgccuuu 11280  
ucuaugcaca cauacucuca ccacgaacug acgcgggugg cuucagccu cagaaaacuu 11340  
ggggcgccac cccucagggu guggaagagu cgggcucgcg cagucagggc gucccucauc 11400  
ucccguggag ggaaagcggc cguuugcggc cgauaucucu ucaauugggc ggugaagacc 11460  
aagcucaaac ucacuccauu gccggaggcg cgcuacugg acuuauccag uugguucacc 11520  
gucggcgccg gcggggcga cauuuuucac agcgugucgc gcgcgcgacc ccgcucauua 11580  
cucuucggcc uacuccuacu uiucguaggg guaggccucu uccuacuccc cgcucggua 11640  
agcggcacac acuagguaca cuccauagcu aacuguuccu uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu 11700  
uuuuuuuuuu uuuuuuuuuu uucuuuuuuu uuuuuuuuccc ucuiucuucc cuucucaucu 11760  
uauucuacuu ucuiucuugg ugcuuccauc uuagccuag ucacggcuag cugugaaagg 11820  
uccgugagcc gcaugacugc agagagugcc guaacugguc ucucugcaga ucaugu 11876

## INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/JP2005/003232

### A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl<sup>7</sup> C12N15/63, C12N1/15, C12N1/19, C12N1/21, C12N5/00, C12N7/01, C12Q1/02, C12Q1/68, G01N33/15, G01N33/50, G01N33/53, G01N33/567, C07K16/08, A61K35/76, A61P37/04

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

### B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl<sup>7</sup> C12N15/63, C12N1/15, C12N1/19, C12N1/21, C12N5/00, C12N7/01, C12Q1/02, C12Q1/68, G01N33/15, G01N33/50, G01N33/53, G01N33/567, C07K16/08, A61K35/76, A61P37/04

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

MEDLINE, BIOSIS/WPI (DIALOG), SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ, CAPLUS/REGISTRY(STN), JICST FILE(JOIS)

### C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X Y	Lechmann M. et al., Hepatitis C virus-like particles induce virus-specific humoral and cellular immune responses in mice, Hepatology, 2001, Vol.34, pages 417 to 423	<u>17,18,26</u> 1-16,19-25
Y	JP 2002-171978 A (Zaidan Hojin Tokyo-To Igaku Kenkyu Kiko), 18 June, 2002 (18.06.02), Full text (Family: none)	1-26
Y	Lim S.P. et al., Inducible system in human hepatoma cell lines for hepatitis C virus production, Virology, 2002, Vol.303, pages 79 to 99	1-26

Further documents are listed in the continuation of Box C.

See patent family annex.

\* Special categories of cited documents:

- "A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- "E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
- "L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- "O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- "P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- "T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- "X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- "Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
- "&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search  
18 March, 2005 (18.03.05)

Date of mailing of the international search report  
05 April, 2005 (05.04.05)

Name and mailing address of the ISA/  
Japanese Patent Office

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

**INTERNATIONAL SEARCH REPORT**

International application No.

PCT/JP2005/003232

## C (Continuation). DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	IKEDA M. et al., Selectable subgenomic and genome-length dicistronic RNAs derived from an infectious molecular clone of the HCV-N strain of hepatitis C virus replicate efficiently in cultured Huh7 cells, J.Viro., 2002, Vol.76, pages 2997 to 3006	1-26

## A. 発明の属する分野の分類(国際特許分類(IPC))

Int. Cl' C12N15/63, C12N1/15, C12N1/19, C12N1/21, C12N5/00, C12N7/01, C12Q1/02, C12Q1/68, G01N33/15, G01N33/50, G01N33/53, G01N33/567, C07K16/08, A61K35/76, A61P37/04

## B. 調査を行った分野

## 調査を行った最小限資料(国際特許分類(IPC))

Int. Cl' C12N15/63, C12N1/15, C12N1/19, C12N1/21, C12N5/00, C12N7/01, C12Q1/02, C12Q1/68, G01N33/15, G01N33/50, G01N33/53, G01N33/567, C07K16/08, A61K35/76, A61P37/04

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

国際調査で使用した電子データベース(データベースの名称、調査に使用した用語)

MEDLINE, BIOSIS/WPI(DIALOG), SwissProt/PIR/GeneSeq, Genbank/EMBL/DDBJ, CAPLUS/REGISTRY(STN), JICSTファイル(JOIS)

## C. 関連すると認められる文献

引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
X Y	Lechmann M. et al., Hepatitis C virus-like particles induce virus-specific humoral and cellular immune responses in mice, Hepatology, 2001, Vol. 34, p. 417-423	17, 18, 26 1-16, 19-25
Y	JP 2002-171978 A (財団法人 東京都医学研究機構) 2002. 06. 18, 全文(ファミリーなし)	1-26
Y	Lim S. P. et al., Inducible system in human hepatoma cell lines for hepatitis C virus production, Virology, 2002, Vol. 303, p. 79-99	1-26

C欄の続きにも文献が列挙されている。

パテントファミリーに関する別紙を参照。

## \* 引用文献のカテゴリー

- 「A」特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
- 「E」国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
- 「I」優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献(理由を付す)
- 「O」口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
- 「P」国際出願目前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願

## の日の後に公表された文献

- 「T」国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と矛盾するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
- 「X」特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
- 「Y」特に関連のある文献であって、当該文献と他の1以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
- 「&」同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日

18. 03. 2005

国際調査報告の発送日

05. 04. 2005

国際調査機関の名称及びあて先

日本国特許庁 (ISA/JP)

郵便番号 100-8915

東京都千代田区霞が関三丁目4番3号

特許庁審査官(権限のある職員)

高堀 栄二

4 B 3227

電話番号 03-3581-1101 内線 3488

C(続き) . 関連すると認められる文献		
引用文献の カテゴリー*	引用文献名 及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する 請求の範囲の番号
Y	Ikeda M. et al., Selectable subgenomic and genome-length dicistronic RNAs derived from an infectious molecular clone of the HCV-N strain of hepatitis C virus replicate efficiently in cultured Huh7 cells, J. Virol., 2002, Vol. 76, p. 2997-3006	1-26